



**IMPACTO DO DESMATAMENTO DA CAATINGA SOBRE A COMUNIDADE  
MICROBIANA DO SOLO**

**VERA LÚCIA PEREIRA**

**RECIFE**

**FEVEREIRO/2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**IMPACTO DO DESMATAMENTO DA CAATINGA SOBRE A COMUNIDADE  
MICROBIANA DO SOLO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Fungos.

**Área de Concentração:** Micologia Aplicada

**VERA LÚCIA PEREIRA**

**Orientadora:** Dr<sup>a</sup> Adriana Mayumi Yano-Melo

**Coorientadora:** Dr<sup>a</sup> Elaine Malosso

**RECIFE**

**FEVEREIRO/2013**

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Pereira, Vera Lúcia**

**Impacto do desmatamento da Caatinga sobre a comunidade microbiana do solo/  
Vera Lúcia Pereira– Recife: O Autor, 2013.**

**161 folhas : il., fig., tab.**

**Orientadora: Adriana Mayumi Yano-Melo**

**Coorientadora: Elaine Malosso**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro  
de Ciências Biológicas, Biologia de Fungos, 2013.**

**Inclui bibliografia**

**1. Fungos do solo 2. Caatinga 3. Desmatamento I. Yano-Melo, Adriana  
Mayumi (orientadora) II. Malosso, Elaine (coorientadora) II. Título**

**2. 579.5 CDD (22.ed.) UFPE/CCB- 2013- 324**

**3.**

**IMPACTO DO DESMATAMENTO DA CAATINGA SOB A COMUNIDADE  
MICROBIANA DO SOLO**

**VERA LÚCIA PEREIRA**

Data da defesa: 27 de Fevereiro de 2013

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**MEMBROS TITULARES**

Dr. Adriana Mayumi Yano-Melo (orientadora)  
Universidade Federal do Vale do São Francisco - Univasf

Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Semiárido

Dr. Márcio Sampaio Pimentel  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

*Ao Deus digno de toda*

*honra e toda glória*

*ofereço.*

***“A tarefa não é tanto ver o que ninguém viu ainda, mas pensar o que ninguém pensou sobre algo que todos veem” – Arthur Schopenhauer.***

*Aos meus pais, Severino Barbosa e Ana Lúcia, aos meus irmãos M<sup>a</sup> Lúcia e Sílvio e ao meu namorado Lucas Souza pelo amor, dedicação e constante presença em minha vida.*

*Dedico*

## ***Agradecimentos***

*Ao Deus, pela vida, pela força e por tudo que ele fez, faz e continuará fazendo em minha vida. Sem Ele nada disso seria possível.*

*Aos meus pais, Ana Lúcia e Severino Barbosa, pelo amor e pelo grande e continuado apoio.*

*A minha irmã Maria Lúcia e meu cunhado Pedro Henrique, pelo carinho e apoio.*

*Ao meu irmão Sílvio Barbosa, por me proporcionar muitas alegrias e momentos de descontrações.*

*A Lucas Souza pelo companheirismo, carinho, amizade, por me incentivar e por todos os bons momentos que compartilhamos.*

*Aos meus primos Wibison Avelino, Fernanda Silva e Maria Camila pela torcida e orações.*

*A minha tia Maria do Socorro, pelo carinho e pela torcida.*

*A toda minha família pelo carinho, apoio e compreensão.*

*À Profa. Adriana M. Yano-Melo pela orientação, incentivo, confiança e apoio.*

*À Profa. Elaine Malosso pela coorientação.*

*À Profa. Uided M. T. Cavalcante pelo apoio e incentivo.*

*Agradeço o apoio oferecido pela Embrapa Semiárido, em especial ao Dr. Nataniel Franklin de Melo, Elenício Gomes, Paula Silva, Paulo Ivan e Luiz Claudio Corrêa.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.*

*A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento do projeto.*

*À Universidade Federal do Vale do São Francisco pelo uso de suas instalações.*

*A todos os meus amigos, que seria impossível listá-los aqui, pelo apoio, incentivo e compreensão nas minhas ausências. Em especial à Juliana Souza de Pontes, Iolanda Ramalho, Reginaldo Alves, Frederico Marinho, Juliana Aparecida e Laís Lima pela valiosa amizade, e pelos momentos que compartilhamos nesse período.*

*Ao companheiro Inácio Pascoal pela ajuda e momentos compartilhados.*

*À Gisele Veneroni pela paciência em me ensinar um pouco da biologia molecular e pelo auxílio em algumas análises.*

*Aos companheiros da turma de mestrado, Mayara Nunes, Jadson Bezerra, Cyndy Mary, Juliana Souza, Victor Coimbra, Nestor Valente, Iolanda Ramalho, Gleiciere Maia, Jacilene Maciel,*

*Alice Silveira, Vitor Xavier, Edvaneide Leandro, Camilla Maciel, Patrícia Barbosa e Lídia Silva com os quais compartilhei momentos felizes e importantes.*

*Aos amigos do Laboratório de Microbiologia do Campus Ciências Agrárias/Univasf: Aline Passos, Angélica Ricarte, Michelline Lins, Jorge Leal, Karen Menezes, Thaís Teixeira, Eliene Matos, Artenia Almeida, Maylane Brito, Flávia Coutinho, Amando Vieira, Percivaldo Resende João Ricardo Oliveira, Tomás Azevedo e Alan Honorato, por ter tornado minha estadia em Petrolina tão agradável.*

*À equipe do Laboratório de Micorrizas: Angelo Santana, Catarina Mello, Danielle Magna, Camilla Maciel, Danielle Karla, Inácio Pascoal, Indra Escobar, Larissa Vieira, Anuska Almeida, Araeska Carena e Vilma Santos pelo apoio.*

*Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.*

## RESUMO GERAL

A região semiárida do nordeste brasileiro é ocupada por uma vegetação de fisionomia variada, adaptada às condições de aridez, denominada caatinga. A Caatinga vem sendo gradativamente impactada pelo desmatamento e uso inadequado dos recursos naturais. Ainda são práticas comuns no preparo da terra para a agropecuária, o desmatamento e as queimadas, que contribuem para desequilibrar o clima, piorar a qualidade do solo e prejudicar a manutenção de populações presentes. Embora grande volume de trabalhos sobre monitoramento da qualidade do solo, envolvendo variados cenários ambientais e de manejo sejam relatados, pouca ênfase é dada à degradação dos solos em regiões secas. Considerando que a atuação dos micro-organismos do solo pode contribuir para a qualidade edáfica, objetivou-se comparar a atividade microbiana em solos sob caatinga nativa e após o desmatamento. Coletas de solo foram realizadas em área sob caatinga nativa ( $T_0$ ), e com 60 ( $T_1$ ), 106 ( $T_2$ ) e 160 ( $T_3$ ) dias de desmatamento, no município de Petrolina, Pernambuco. Avaliaram-se: atividade enzimática, carbono da biomassa microbiana, respiração microbiana, quociente metabólico, ergosterol no solo e estrutura da comunidade microbiana por DGGE. O carbono da biomassa microbiana (CBM) teve maiores valores em  $T_3$  e a fosfatase ácida foi significativamente maior em  $T_0$ . Com o resultado da análise multivariada foram formados três grupos envolvendo os períodos amostrais. O primeiro foi formado pela caatinga nativa ( $T_0$ ), o segundo por  $T_1$  e  $T_2$ , e o último por  $T_3$ . A maioria da variabilidade dos dados entre os tempos amostrais foi correlacionada positivamente com o carbono da biomassa microbiana e com a atividade da fosfatase ácida, correlação positiva também foi observada para respiração edáfica basal, o teor de ergosterol e atividade da  $\beta$ -glicosidase. As variáveis físicas e químicas do solo, temperatura, CTC, umidade, Na, Al, K e Mg, contribuíram para a separação dos tempos amostrais. A umidade foi determinante para a separação de  $T_3$ . A temperatura do solo, CTC, os nutrientes K e Mg edáfico influenciaram na formação do grupo composto por  $T_1$  e  $T_2$ . As duas amostragens realizadas após o desmatamento da caatinga apresentaram semelhança formando apenas um grupo, no entanto, após 160 dias de desmatamento, a área mostrou-se diferente de todos os tempos amostrados, fato atribuído às melhores condições proporcionadas pela umidade no solo em decorrência da chuva. Conclui-se que a umidade do solo é mais determinante para a atividade microbiana edáfica do que o desmatamento da caatinga.

**Palavras-chave:** Desmatamento, Atividade microbiana, Enzimas do solo, Caatinga, Ergosterol, DGGE

## **ABSTRACT**

The semiarid region of northeastern Brazil is occupied by a varied vegetation physiognomy, adapted to arid conditions, called caatinga. The Caatinga has gradually been impacted by deforestation and misuse of natural resources. Deforestation and fires are still common practices in land preparation for agriculture, which contribute to destabilizing the climate, decrease soil quality and affect the maintenance of the populations present. Although a large amount of work have been reported on monitoring of soil quality involving several environmental scenarios and management, little emphasis is given to land degradation in drylands. Whereas the action of micro-organisms in the soil can contribute to edaphic quality, we aimed to compare microbial activity in soils under native savanna and after deforestation. Soil samples were taken in the area under native caatinga ( $T_0$ ), and 60 ( $T_1$ ), 106 ( $T_2$ ) and 160 ( $T_3$ ) days of deforestation in the municipality of Petrolina, Pernambuco. Several variables were evaluated: enzymatic activity, microbial biomass carbon, microbial respiration, metabolic quotient, ergosterol content in soil and the microbial community structure by DGGE. The microbial biomass carbon (MBC) presented higher mean  $T_3$  and acid phosphatase was significantly higher at  $T_0$ . With the result of the multivariate analysis three groups were formed involving the sampling periods. The first was formed by native caatinga ( $T_0$ ), the second for  $T_1$  and  $T_2$ , and  $T_3$  was also separated. Most of data variability between sampling times was positively correlated with soil microbial biomass and activity of acid phosphatase. Positive correlation was also observed for edaphic basal respiration, ergosterol content and the activity of  $\beta$ -glucosidase. The physical and chemical soil variables like temperature, CTC, humidity, Na, Al, K and Mg contributed to the separation of the sampling times. Humidity was crucial for the separation of  $T_3$ . Soil temperature, CTC, and edaphic nutrients K and Mg influenced the formation of the group consisting of  $T_1$  and  $T_2$ . The two samples taken after caatinga clearing showed similarity forming one group, however, after 160 of deforestation, the area showed differences to all sampled times, a fact attributed the better conditions offered by soil moisture due to rain. In conclusion, soil moisture is more determining to edaphic microbial activity than caatinga deforestation.

**Key-words:** Deforestation, Microbial activity, Soil enzymes, Caatinga, Ergosterol, DGGE

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

### Capítulo 3

- Figura 1** – Escalonamento multidimensional não métrico (NMS) a partir de dados de carbono da biomassa microbiana do solo, respiração edáfica basal, atividade da fosfatase ácida e da  $\beta$ -glicosidase, hidrólise do FDA, carbono orgânico do solo e teor de ergosterol, com vetores relacionados às propriedades físicas e químicas do solo em amostras de solo de caatinga nativa ( $T_0$ ) e desmatada com 60 dias ( $T_1$ ), 106 dias ( $T_2$ ) e 160 dias ( $T_3$ )..... 39
- Figura 2** – Análise de agrupamento baseada nos perfis de bandas de DGGE de solos de área de caatinga nativa ( $T_0$ ), e após 60 ( $T_1$ ), 106 ( $T_2$ ) e 160 ( $T_3$ ) dias de desmatamento, no município de Petrolina, Pernambuco.  
..... 40

## LISTA DE TABELAS

Pág.

### Capítulo 3

<b>Tabela 1</b> – Caracterização química do solo nos períodos de coleta em Caatinga nativa (T <sub>0</sub> ) e desmatada (T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> e T <sub>3</sub> ), Petrolina, Pernambuco.....	41
<b>Tabela 2</b> – Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), respiração edáfica basal (RES), hidrólise do FDA, quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), carbono orgânico total (COT), atividades da $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida e teor de ergosterol (ERG) no solo em área sob caatinga nativa (T <sub>0</sub> ) e após desmatamento com 60 (T <sub>1</sub> ), 106 (T <sub>2</sub> ) e 160 (T <sub>3</sub> ) dias. .....	42

## SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1. Aspectos gerais do Semiárido e da vegetação da Caatinga	15
2.2. O solo e os indicadores de qualidade	16
2.3. Os micro-organismos do solo	18
2.4. Atributos biológicos do solo	19
2.4.1. Carbono da Biomassa Microbiana	19
2.4.2. Estimativa da biomassa fúngica pelo teor de ergosterol	20
2.4.3 Respiração edáfica basal	21
2.4.4 Quociente Metabólico ( $qCO_2$ )	22
2.4.5 Carbono orgânico do solo	22
2.4.6 Enzimas do solo	23
2.4.7 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE	25
2.5. Atividade microbiana em solos brasileiros	26
2.5.1 Atividade microbiana do solo em condições semiáridas	27
3. ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE FUNGOS E ATRIBUTOS EDÁFICOS APÓS DESMATAMENTO DE UMA ÁREA DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO	29
3.1. Introdução	30
3.2. Material e Métodos	31
3.4. Resultados	35

3.5. Discussão	38
3.6. Conclusões	42
3.7. Agradecimentos	
Referências bibliográficas	43

## 1. INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga engloba partes dos territórios pertencentes aos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (Alves et al., 2008). O termo caatinga designa um tipo de vegetação arborescente, xerófilo e caducifólio que recobre as terras semiáridas do nordeste brasileiro (Alves, 2007).

A Caatinga compreende uma área de 969.589,4 Km<sup>2</sup>, abrangendo 1.133 municípios (MNI, 2005) sendo caracterizada por apresentar forte insolação, temperaturas relativamente altas, regime de chuvas marcado pela escassez, irregularidade e concentração das precipitações em um curto período, em média, de três a quatro meses. A Caatinga tem vivenciado muitas transformações ao longo da sua história, ficando cada vez mais alterada em função da vasta substituição de espécies vegetais nativas por cultivos e pastagens. Atualmente, este bioma é considerado um dos mais devastados no território brasileiro e estudos sobre o processo de degradação de sua vegetação ainda são insuficientes, apesar de sua vulnerabilidade às centenas de anos de uso inadequado e insustentável dos solos e recursos naturais.

O solo é o ambiente suporte para diversos organismos (Fialho et al., 2006). É considerado um dos componentes essenciais para a vida e a saúde da humanidade e toda a vida no planeta, pois sustenta a produção de alimentos e a manutenção da qualidade ambiental (Bastida et al., 2006a). Sua qualidade tem sido verificada basicamente por meio de indicadores físicos, químicos e biológicos (Donagemma et al., 2010). Assim, estudos relativos ao monitoramento das propriedades do solo são importantes para avaliar a sustentabilidade de práticas agrícolas e suprir a ausência de dados, além de sinalizar o manejo adequado do ambiente visando sua conservação e produtividade (Fialho et al., 2006). Uma das estratégias utilizadas para avaliar alterações do solo em decorrência do desmatamento é a comparação de atributos do solo sob vegetação nativa com os solos sem vegetação (Schimitz, 2003). Entre estes indicadores estão: carbono da biomassa microbiana do solo, respiração edáfica basal e atividade enzimática. Segundo Gil-Sotres et al. (2005), cerca de 40 % dos trabalhos publicados usam parâmetros gerais como: CBM, REB e hidrólise do FDA; 60 % usam parâmetros específicos como: atividade das enzimas urease ou fosfatase. Os autores destacam que, dentre estes parâmetros, o CBM é o mais confiável. Além disso, as técnicas de biologia molecular oferecem novas oportunidades para analisar a estrutura e composição de espécies de comunidades microbianas (Muyzer et al., 1993). A técnica de PCR aliada à eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) constitui o principal método utilizado para o estudo de comunidades microbianas de amostras ambientais (Balieiro et al., 2005). O ergosterol é componente presente da

membrana celular dos fungos e tem sido cada vez mais utilizado em estudos de composição da comunidade microbiana do solo (Moeskops et al., 2012). Os fungos representam a maior parte da biomassa microbiana do solo e são muito importantes para o ecossistema (Mendes e Reis Júnior, 2004; Baldrian et al., 2012). Apesar do grande volume de trabalhos sobre monitoramento da qualidade do solo envolvendo variados cenários ambientais e de manejo, poucos abordam a degradação dos solos em regiões secas (Galindo et al., 2008). Diante disto, o objetivo desse trabalho foi avaliar se em condições semiáridas a atividade da comunidade microbiana do solo seria afetada pela alteração na cobertura vegetal decorrente do desmatamento.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Aspectos gerais do Semiárido e da vegetação da Caatinga

A região Semiárida do nordeste brasileiro compreende uma área de 969.589,4 Km<sup>2</sup>, abrangendo 1.133 municípios (MNI, 2005). Esta região é caracterizada por apresentar forte insolação, temperaturas relativamente altas, regime de chuvas marcado pela escassez e irregularidade e concentração das precipitações em um curto período, em média, de três a quatro meses. A maior parte de seu território é ocupada por vegetação de fisionomia variada e adaptada às condições de aridez, denominada caatinga (Silva, 2005).

O bioma Caatinga engloba partes dos territórios pertencentes aos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (Alves et al., 2008). O termo caatinga designa um tipo de vegetação arborecente, xerófilo e caducifólio que recobre as terras semiáridas do nordeste brasileiro (Alves, 2007). A Caatinga é considerada um patrimônio biológico de valor incalculável por possuir considerável número de espécies endêmicas (Silva, 2005).

A composição florística desse bioma não é uniforme e varia do acordo com o volume das precipitações pluviométricas, do tipo de solo, da rede hidrográfica e da ação antrópica, as árvores e arbustos que compõem a caatinga apresentam copas que podem atingir de 4,0 a 7,0 m, porém algumas espécies se destacam na paisagem, podendo alcançar até 10,0 m (Silva, 2005). A vegetação arbórea da Caatinga apresenta alta densidade de indivíduos, com 1.000 a 5.000 árvores por hectare, árvores com altura dominante variando entre 3,0 a 6,0 m, rápida resposta às chuvas, alta capacidade de recuperação após algum tipo de intervenção.

Esse bioma tem vivenciado muitas transformações ao longo da sua história, cada vez mais alterados, em função da vasta substituição de espécies vegetais nativas por cultivos e pastagens. O desmatamento e o uso inadequado dos recursos naturais são considerados os principais motivos para a crescente degradação da Caatinga (Correia et al., 2009). Soma-se a isto, o fato de que dentre as regiões semiáridas do mundo, o sertão nordestino apresenta uma das maiores densidades populacionais, o que acarreta em alta pressão antrópica sobre os recursos naturais (MMA, 2008). No preparo da terra para a agropecuária são ainda práticas comuns o desmatamento e as queimadas, que desequilibram o clima e o solo, destruindo a cobertura vegetal, além de prejudicar a manutenção de populações da fauna (Alves et al., 2008, Soares e Almeida, 2011). De acordo com

Wick et al. (2000), mudanças na cobertura da terra associadas a diferentes usos são importantes agentes de mudança e degradação ambiental nos trópicos semiáridos.

Atualmente, a Caatinga é considerada um dos biomas mais devastados no território brasileiro, e estudos sobre a degradação da caatinga ainda são insuficientes, considerado como um dos biomas mais ameaçados do planeta devido às centenas de anos de uso inadequado e insustentável dos solos e recursos naturais (Velloso et al., 2002; Evangelista, 2011). Há 10 anos a área coberta por atividades agrícolas na região era de 201.786 Km<sup>2</sup>, correspondendo a 27,47 % da área total da Caatinga que foi modificada pelas atividades humanas, resultando em fragmentação da vegetação (Castelletti et al., 2003).

Com a perda da cobertura arbustiva (por corte, queima ou pastoreio), a exposição do solo desnudo promove a formação de uma crosta superficial decorrente do impacto direto das gotas de chuva, aumentando o escoamento, reduzindo a infiltração da água e a possibilidade de estabelecimento de cobertura vegetal (Galindo et al., 2008).

A água é um dos componentes mais importantes para reabilitação dos solos, principalmente na região semiárida que sofre com escassez deste recurso natural. Com a ausência de chuvas a vegetação espontânea não ocorrerá ou será de baixa densidade, reduzindo drasticamente a entrada de carbono no solo por esta fonte (Bastida et al., 2006b). Desta forma, a vegetação é essencial para evitar processos de degradação e a remoção da cobertura vegetal natural pode causar profundas alterações físicas, químicas e biológicas no solo (Chaer et al., 2009), uma vez que a cobertura vegetal protege o solo (Correia et al., 2009), reduzindo a possibilidade de degradação (Gama-Rodrigues et al., 2008). Além de proteger fisicamente o solo, o desenvolvimento vegetal tem um efeito positivo sobre a comunidade microbiana e sua atividade, elevando o conteúdo de matéria orgânica (Bastida et al., 2008b).

## **2.2 O solo e os indicadores de qualidade**

O solo é o ambiente suporte para diversos organismos (Fialho et al., 2006), sendo considerado um dos componentes essenciais para a vida e a saúde de todos os organismos, pois sustenta a produção de alimentos e a manutenção da qualidade ambiental (Bastida et al., 2006a). Sua qualidade tem sido verificada basicamente por meio de indicadores físicos, químicos e biológicos, sendo esta última mais difícil para quantificar. Deve ser salientado que nenhum atributo pode ser utilizado isoladamente como um indicador de qualidade do solo.

A escolha dos indicadores da qualidade do solo depende da função para qual estão sendo avaliados. Para um indicador ser considerado ideal o mesmo deve representar fidedignamente a

condição real de uma ou várias funções do solo (Donagemma et al., 2010). Assim, estudos relativos ao monitoramento das propriedades do solo são importantes para avaliar a sustentabilidade das práticas agrícolas e suprir a ausência de dados, além de sinalizar o manejo adequado do ambiente visando à sua conservação e produtividade (Fialho et al., 2006).

Uma das estratégias utilizadas para avaliar alterações do solo em decorrência do desmatamento é a comparação de atributos do solo sob vegetação nativa e sem vegetação (Schimitz, 2003). O solo como habitat é um sistema heterogêneo, descontínuo e estruturado, formado por micro-habitats discretos com diferentes características químicas, físicas e comunidades biológicas. Uma comunidade em equilíbrio com seu ambiente sofre menor efeito de fatores externos e está sob estado denominado “tampão biológico”. Solos com comunidade diversa de organismos são mais resilientes, pois quando as condições se tornarem adversas para um grupo, outro grupo pode se adaptar aquela condição realizando o mesmo processo, possibilitando a recuperação da biomassa microbiana e a qualidade do solo com o tempo.

A biota do solo é composta pela macrobiota (em maioria, anelídeos e cupins), mesobiota (protozoários, nematóides, formigas e colêmbolas) e microbiota (fungos e bactérias), e pode refletir o equilíbrio biológico resultante da ação de todas as propriedades físicas e químicas do solo e do ambiente. Entre estas se destaca a microbiota, que é responsável pela decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes no solo (Moreira e Siqueira, 2006; INPA, 2011).

Os micro-organismos ocupam em torno de 0,5 % do espaço poroso do solo, porém essa porcentagem aumenta significativamente no solo rizosférico devido à disponibilidade de substrato, uma vez que a microbiota heterotrófica utiliza para sua manutenção, resíduos de plantas, animais e outros micro-organismos (Moreira e Siqueira, 2006; Kaschuk et al., 2010).

Entre os fatores responsáveis por condições mais favoráveis ao desenvolvimento microbiano no solo, destaca-se a ausência de preparo, que resulta em maior quantidade de raízes, as quais aumentam a disponibilidade de substratos carbonados no sistema, via exsudatos radiculares, além disso, o não revolvimento do solo resulta na menor aeração, e conseqüentemente, menor decomposição dos resíduos orgânicos do solo (Fialho et al., 2006).

A vegetação é um dos principais fatores que determinam a composição da comunidade microbiana do solo, uma vez que fornece o principal recurso para o crescimento heterotrófico. Uma vez que diversas espécies de plantas são constituídas por diferentes compostos de carbono, distintos micro-organismos podem crescer no solo em comunidades de plantas variadas. Uma mudança na vegetação, como a substituição de uma floresta por um pasto, constitui certamente uma grande

mudança no ambiente do solo, em especial em diferentes fontes de carbono para os micro-organismos (Naussein e Tiedje, 1999). Outra modificação seria o desmatamento, que diminui a biodiversidade, limita a vegetação natural e simplifica a estrutura do ecossistema uma vez que a remoção da vegetação altera a quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo (Dinesh et al., 2003). Tal fato pode levar a sua degradação, sendo observado que em regiões tropicais há redução significativa do poder de resiliência dos ecossistemas alterados devido, principalmente, a perda da camada superficial do solo (Balieiro et al., 2005). Quando um solo é exposto a processos degradativos, seu estado biológico é o primeiro a ser afetado, uma vez que os organismos presentes neste ambiente necessitam de matéria orgânica para sua sobrevivência (Lobo et al., 2006).

Desta forma, o rápido desenvolvimento demográfico no mundo tende a gerar altos impactos sobre a qualidade do solo. Neste sentido, ferramentas sensíveis e precisas para avaliar essas alterações em curta escala de tempo são necessárias para compreendermos o significado das alterações observadas (Bastida et al., 2008a). Indicadores físicos e químicos são primordiais na avaliação da qualidade do solo, no entanto os indicadores biológicos são mais sensíveis a mudanças e podem descrever a qualidade do solo de uma maneira mais ampla (Bastida et al., 2008a).

### **2.3 Os micro-organismos do solo**

Os micro-organismos que habitam o solo por não estarem visíveis a olho nu raramente são mencionados e podem inclusive ser negligenciados, embora realizem atividades imprescindíveis para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais (Moreira e Siqueira, 2006). A quantidade de diversos grupos de micro-organismos na rizosfera pode exceder mais de mil vezes aquela do solo não rizosférico (Moreira e Siqueira, 2006) e muitos estão envolvidos na ciclagem de nutrientes e decomposição da matéria orgânica (Acosta-Martinez, 2008).

Todos os micro-organismos do solo necessitam de água para absorção de nutrientes e manutenção da integridade celular, porém as variações sazonais de temperatura e umidade podem afetar as comunidades biológicas do solo e sua atividade. As variações sazonais geram ciclos de seca e umidade que ajudam a liberar substratos das superfícies de células mortas, estimulando a atividade metabólica nos solos (Moreira e Siqueira, 2006).

A energia e os elementos contidos nos materiais orgânicos são reciclados e liberados, assim, os restos vegetais são geralmente incorporados ao solo, a partir da fragmentação dos resíduos pela fauna do solo e ação de enzimas microbianas. A biomassa vegetal é um grande estoque de C, N, P e S, enquanto a biomassa microbiana proporciona um grande fluxo de carbono e nutrientes no solo, com uma taxa de reciclagem de até 200 vezes mais rápida do que a biomassa vegetal, evidenciando

a importância dos processos microbianos do solo no fluxo de C (energia) e dos elementos absorvidos pelas plantas e animais nos ecossistemas (Moreira e Siqueira, 2006).

Em todo o mundo e, em especial, em países tropicais, a intensificação da agricultura tem levado à degradação acelerada do solo, que é o maior reservatório de nutrientes essenciais aos organismos, importantes componentes do protoplasma de todos os organismos vivos. Assim, a compreensão do funcionamento do sistema do solo tem permitindo ampliar os conhecimentos sobre os métodos para sua recuperação e conservação e sobre as estratégias mais adequadas para avaliar sua saúde e qualidade (Schimitz et al., 2003; Moreira e Siqueira, 2006) destacando que um bom nível de atividade microbiológica é essencial para manter a sua qualidade (Bastida et al., 2006).

## **2.4 Atributos biológicos do solo**

### **2.4.1 Carbono da biomassa microbiana**

A vida no planeta é sustentada por processos importantes, entre eles fotossíntese, respiração e a decomposição, sendo este último seguido da mineralização dos materiais orgânicos. Os resíduos orgânicos originados do perecimento das plantas ou de suas partes, de animais e dos dejetos produzidos, são depositados ao solo constituindo a matéria orgânica, sendo transformada pelos micro-organismos e permanecendo em forma de carbono orgânico ativo (biomassa microbiana) ou inativo no solo. Esta fração ativa corresponde, geralmente, de 1,0 a 5,0 % do total de materiais orgânicos do solo, desta fração, aproximadamente 60,0 a 80,0 % correspondem aos micro-organismos (Araújo e Melo, 2012). A fração representada pela biomassa microbiana é um reservatório considerável de nutrientes, os quais são continuamente repassados para os diferentes organismos que compõem o ecossistema (Araújo e Melo, 2012).

A biomassa microbiana é um importante componente ecológico, responsável pela decomposição e mineralização dos resíduos animais, vegetais e microbianos no solo, utilizando-os como fonte de energia para a formação e o desenvolvimento de suas células, bem como para a síntese de substâncias orgânicas no solo (Schimitz, 2003). Por participar de processos vitais no solo sua avaliação tem sido proposta como indicador do estado e das mudanças da matéria orgânica total, pois muitos micro-organismos utilizam a fração disponível da matéria orgânica, tornando esta variável sensível às mudanças em sua qualidade. Mudanças significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas muito antes que alterações na matéria orgânica possam ser percebidas, possibilitando a adoção de medidas de correção antes que a perda da qualidade do solo seja mais severa (Tótola e Chaer, 2002).

Chen et al. (2003) observaram flutuações sazonais na biomassa microbiana devido às mudanças das condições ambientais (chuva, temperatura e umidade). A incorporação de resíduos de plantas favorece o aumento na biomassa microbiana do solo, através da melhoria de condições químicas e físicas, assim, a redução da cobertura vegetal possui uma influência negativa sobre a biomassa microbiana (Pimentel et al., 2011). A baixa quantidade de matéria orgânica no solo resulta em baixo C lábil capaz de sustentar o desenvolvimento da microbiota, o que pode inibir sua atividade (Albuquerque et al., 2008).

O CBM no solo é influenciado tanto pelos teores de matéria orgânica como pela umidade do solo. Pastagens consorciadas apresentaram maiores teores de CBM do que as áreas sob culturas, provavelmente devido à maior densidade de raízes e disponibilidade de substratos orgânicos (Oliveira et al., 2001). Entre os solos sob mata nativa os maiores níveis de CBM foram encontrados em mata de galeria, por terem maiores teores de matéria orgânica e umidade do solo, devido a densa camada de serapilheira e quantidade e qualidade dos resíduos vegetais retornados ao solo. A biomassa microbiana tem sido utilizada em trabalhos em ecossistemas brasileiros, como relatado por Kaschuk et al. (2010) que relataram valores entre 72 e 385 mg C kg<sup>-1</sup> para solos de caatinga. Wick et al. (2002) registraram em áreas de Caatinga valores entre 29 e 167 mg kg<sup>-1</sup>. Xavier et al. (2006) registraram valores variando de 141 a 252 mg kg<sup>-1</sup> em área de pastagem e caatinga nativa, respectivamente.

#### **2.4.2 Estimativa da Biomassa fúngica no solo pelo teor de ergosterol**

O ergosterol é componente presente da membrana celular dos fungos e é cada vez mais utilizado em estudos de composição da comunidade microbiana do solo (Moeskops et al., 2012). Os fungos representam a maior parte da biomassa microbiana do solo e são muito importantes para o ecossistema (Mendes e Reis Júnior, 2004; Baldrian et al., 2012). Uma das vantagens da utilização deste indicador é que sua determinação é relativamente simples (Djajakirana et al., 1996), existindo alta correlação entre C da biomassa microbiana e conteúdo de ergosterol no solo.

O método de determinação da concentração de ergosterol é uma abordagem importante para a estimativa da biomassa fúngica, visto que o ergosterol é rapidamente degradado após a morte das hifas dos fungos (Mille-Lindblom et al., 2004).

Baldrian et al. (2010) demonstraram que o conteúdo de ergosterol indicou alterações na biomassa fúngica, em virtude da umidade do solo, onde os valores variaram de 2,4 a 21,3 µg g<sup>-1</sup>. Em solos da Alemanha, a quantidade de ergosterol variou de 5,52 e 5,45 µg g<sup>-1</sup> respectivamente em área

de pastagem e floresta (Djajakirana et al., 1996). Em trabalho realizado por Dinesh et al. (2003) em floresta tropical úmida na Índia o conteúdo de ergosterol diminuiu com o uso do solo para agricultura, variando de  $3,76 \mu\text{g g}^{-1}$  nas florestas e  $0,51 \mu\text{g g}^{-1}$  em solo sob plantio.

### 2.4.3 Respiração basal do solo

A maior parte do carbono depositado no solo é utilizada como fonte de energia primária para o crescimento microbiano, sendo oxidada bioquimicamente a  $\text{CO}_2$ , que será liberado para a atmosfera (Moreira e Siqueira, 2006). Esse processo conhecido como respiração microbiana é o parâmetro mais comumente utilizado relacionado com a atividade microbiana do solo, sendo influenciada pelas fontes de energia e quantidade de micro-organismos no ambiente. A respiração basal do solo pode variar com o clima e alterações no solo (Bastida et al., 2008). A adição de matéria orgânica ao solo aumenta atividade microbiana, ocorrendo maior consumo de  $\text{O}_2$ , liberação de nutrientes e  $\text{CO}_2$  (Moreira e Siqueira, 2006).

Em trabalho comparando mata natural com plantação de bananeira constata-se que em área de mata natural ocorre maior quantidade de  $\text{CO}_2$  liberada em relação à área de plantio, independente da profundidade do solo (Fialho et al., 2006). Este fato, segundo os autores, ocorre devido ao tamanho da biomassa microbiana, visto que maior conteúdo de CBM foi obtido em área natural.

A atividade microbiana avaliada pela emissão de  $\text{CO}_2$  em área de caatinga no Semiárido paraibano variou ao longo do tempo, encontrando-se valores entre  $30,0$  e  $128,8 \text{ mg m}^{-2} \text{ h}^{-2}$  (Araújo et al., 2008).

De acordo com Islam e Weil (2000), altas taxas de respiração edáfica podem ocorrer tanto como resultado do grande “pool” de C lábil ou da oxidação rápida desse carbono. Assim, alta respiração edáfica pode indicar estresse ecológico ou alto nível de produtividade dos ecossistemas.

Por apresentarem maior cobertura vegetal e produção de matéria orgânica, as áreas naturais tendem a apresentar maior e mais ativa comunidade microbiana (Silveira et al., 2005). Além destas características, as áreas de mata podem acumular maior conteúdo de água no solo influenciando a respiração edáfica (Balogh et al., 2011). Desta forma, a respiração microbiana apresenta-se como um atributo sensível para diferenciar áreas nativa e cultivada em floresta tropical brasileira, sendo maior na área cultivada em comparação ao fragmento de mata, indicando que os micro-organismos nessas áreas estão fisiologicamente mais ativos (Silva et al., 2012). Em trabalho realizado por Xavier et al. (2006) a respiração basal foi superior em solo de pastagem em relação à obtida nos

sistemas de cultivo orgânico e na mata nativa, revelando a maior atividade da biomassa microbiana neste sistema em relação aos demais.

Valores entre 3,2 e 3,3  $\text{CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ss}^{-1}$  para solo sob caatinga nativa e 2,1 e 1,3  $\text{CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ss}^{-1}$  para solo sob caatinga degradada foram registrados em semiárido brasileiro (Martins et al., 2010). García et al. (2002) registraram valores de respiração edáfica de  $126 \mu \text{ C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ d}^{-1}$  para solo sob maior cobertura vegetal e  $54 \mu \text{ C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ d}^{-1}$  em solo sob menor cobertura vegetal.

#### 2.4.4 Quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ )

Fisiologicamente o quociente metabólico descreve o substrato mineralizado por unidade de biomassa (Bastida et al., 2008). Elevados valores de  $q\text{CO}_2$  demonstram ambiente com maior grau de distúrbio ou que apresentam comunidades microbianas sob condições desfavoráveis (Jakelaitis et al., 2008). Isso demonstra que a biomassa microbiana torna-se mais eficiente a partir do momento que menos carbono é perdido na forma de  $\text{CO}_2$  pela respiração, possibilitando, assim, maior incorporação de carbono aos tecidos microbianos (Fialho et al., 2006). O aumento do  $q\text{CO}_2$  é justamente uma resposta à mineralização da biomassa microbiana, uma vez que relaciona o quanto de  $\text{CO}_2$  foi liberado devido à mineralização (Martins et al., 2010).

O quociente metabólico também pode indicar a maturidade de um sistema solo. Como observado por Dinesh et al. (2003), em floresta tropical úmida na Índia, maiores valores foram observados em florestas e diminuíram significativamente em solo sob plantações. Estes altos valores sugerem que os micro-organismos do solo em florestas necessitam de alta energia em comparação com os locais de plantação (Dinesh et al., 2003).

Em áreas de caatinga valores variaram de 0,013 a 0,030  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Cmic dia}^{-1}$ , essa variação ocorreu em virtude da variação climática. Para solo sob caatinga degradada os valores registrados foram de 0,042  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Cmic dia}^{-1}$  no período seco e 0,026  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Cmic dia}^{-1}$  no chuvoso (Martins et al., 2010). Pereira et al. (2004) registraram valores superiores de  $q\text{CO}_2$  em área de caatinga nativa quando comparada a áreas cultivadas, indicando que a biomassa microbiana na áreas sem cultivo possui maior atividade metabólica.

#### 2.4.5 Carbono orgânico do solo

A matéria orgânica do solo é uma mistura complexa de organismos vivos ou mortos e de substâncias orgânicas ou inorgânicas transformadas ou em seu estado original (Araújo e Melo, 2012). O carbono orgânico é o principal constituinte da matéria orgânica e pode ser fonte de produção de enzimas e substrato para a sua degradação (Gianfreda et al., 2005). A estimativa do

carbono orgânico do solo desempenha um papel fundamental na determinação do tamanho da biomassa microbiana e do nível de sua atividade (Chaer et al., 2009). A matéria orgânica do solo atua protegendo e mantendo as enzimas do solo em suas formas ativas pela formação de complexos enzima-compostos húmicos (Mendes e Reis Júnior, 2004).

A biomassa microbiana é muito sensível às alterações nas formas de carbono orgânico do solo em função das mudanças no seu manejo ou uso (Fialho et al., 2006). A ausência de variação no conteúdo de matéria orgânica pode manter uma comunidade microbiana metabolicamente ativa (Albuquerque et al., 2008). Por outro lado, a diminuição do teor de C orgânico nos solos pode ser atribuída ao aumento do consumo do carbono prontamente disponível pela biomassa microbiana. Além do aporte de matéria orgânica, a capacidade de retenção de água do solo pode influenciar o CBM (Jakelaitis et al., 2008). Devido ao fato de 95 % da matéria orgânica total do solo ser morta, e, em função disto, relativamente estável ou resistente às mudanças, muitas vezes são necessárias décadas para permitir a observação de alterações mensuráveis em seu teor no solo. A biomassa microbiana tem um tempo de transformação muito mais rápido, sendo, portanto, muito mais sensível para medir alterações na matéria orgânica (Mendes e Reis Júnior, 2004).

#### **2.4.6 Atividade enzimática no solo**

Enzimas catalisam todas as reações bioquímicas e integram o processo de ciclagem de nutrientes no solo. São originadas de todos os organismos vivos presentes no solo, como micro-organismos, plantas e fauna (Tótola e Chaer, 2002), sendo a biomassa microbiana a fonte primária destas enzimas (Moreira e Siqueira, 2006). Bastida et al. (2008) consideram que as enzimas constituem um indicador relacionado especificamente aos ciclos bioquímicos, sendo as mais utilizadas aquelas que participam dos ciclos de C, N, P e S, respectivamente  $\beta$ -glucosidase, urease, fosfatase e arilsulfatase.

As fosfatases são cruciais para transformação do P orgânico e são significativamente alteradas pelo pH do solo, que controla a disponibilidade de P independente do teor de matéria orgânica ou nível de perturbação (Acosta-Martinez et al., 2008). Essas enzimas são produzidas por raízes de plantas e micro-organismos do solo (Kramer e Green, 2000) e sua atividade indica o potencial do solo em promover os processos bioquímicos básicos necessários à manutenção da fertilidade do solo. De acordo com seu pH ótimo, as fosfatases são classificadas em ácida (pH 6,5) e alcalina (pH 11) e desempenham papel fundamental na mineralização e no ciclo do P (Varchot e Borelli, 2005). Fosfatases alcalinas originam-se de bactérias, fungos e fauna do solo (Nakas et al.,

1987) e podem apresentar padrão sazonal em suas atividades (Kramer e Green, 2000), sendo constatada a máxima atividade no verão devido à temperatura e umidade do solo. Outro fator que afeta a atividade enzimática da fosfatase é a vegetação (García et al., 1994).

A  $\beta$ -glucosidase é responsável pela degradação de celulose e catalisam processos hidrolíticos na decomposição da matéria orgânica do solo (Gianfreda et al., 2005), podendo indicar o potencial de decomposição da mesma. Baixa atividade desta enzima indica que o potencial de mineralização da matéria orgânica no solo é baixo (Caravaca et al., 2002). Estes autores observaram variação nos valores da atividade enzimática no solo, isto indica que a atividade das enzimas é sensível à degradação resultante do cultivo da terra em condições semiáridas na Itália, apresentado menor atividade nos solos cultivados. A atividade da  $\beta$ -glucosidase pode apresentar relação significativa com o teor de carbono orgânico e com a biomassa microbiana do solo, pois esta enzima libera fontes de energia importantes e necessárias ao crescimento e desenvolvimento dos micro-organismos do solo. Esta relação foi observada por Bandiane et al. (2001) estudando os efeitos de diferentes manejos de pousio sobre as atividades de enzimas do solo em regiões tropicais semiáridas da África. Por outro lado, menores valores de  $\beta$ -glucosidase são encontrados em solos mais degradados (García et al., 1994). Em áreas nativas, a maior diversidade de espécies de plantas contribui para que o resíduo orgânico (galhos, folhas, flores, frutos e sementes) seja mais complexo, o que pode ser indicado pela baixa atividade da  $\beta$ -glucosidase, uma vez que estas enzimas degradam resíduos de fácil decomposição (Mendes e Reis Júnior, 2004).

A hidrólise do diacetilfluoresceína (FDA) não expressa a atividade de uma enzima específica, mas a de um grupo de enzimas, neste grupo estão lipases, esterases e proteases. O pH ótimo para a hidrólise do FDA situa-se na faixa de 7 a 8 (Melo et al., 2010) e o principal método para avaliação do potencial de hidrólise do FDA em amostras de solo foi proposto por Schnurer & Rosswall (1982). A hidrólise do FDA está diretamente envolvida na transformação de matéria orgânica e maiores valores são observados em mata natural quando comparado com pastagem, provavelmente devido a maior deposição de resíduos vegetais, sugerindo que a hidrólise do FDA seja diretamente proporcional ao crescimento microbiano, considerando a maior produção de carbono da biomassa microbiana encontrada nesta área (Lopes et al., 2010).

#### **2.4.7 Estrutura da comunidade microbiana do solo pela técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE**

As técnicas de biologia molecular oferecem novas oportunidades para analisar a estrutura e composição de espécies de comunidades microbianas (Muyzer et al., 1993), constituindo em ótima ferramenta para tal análise, devido à facilidade de replicação, medição, precisão e velocidade de execução, que são características consideradas desejáveis na seleção de indicadores (Bastida et al., 2008).

Acessar a diversidade microbiana do solo é uma tarefa complexa, considerando que no “ambiente solo” existe grande diversidade genotípica e fenotípica, gerando heterogeneidade e inacessibilidade. Em termos moleculares, a diversidade pode ser estimada como o número e a distribuição das diferentes sequências de DNA extraído de uma comunidade de um determinado habitat. Pesquisas moleculares vêm contribuindo para o estudo das comunidades microbianas do solo e, em sua grande maioria, são baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR – “Polimerase Chain Reaction”) de regiões específicas ou gerais do DNA ou RNA provindo do solo. A técnica de PCR aliada à eletroforese em gel com gradiente desnaturante (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis-DGGE) constituem o principal método utilizado para o estudo de comunidades microbianas de amostras ambientais (Balieiro et al., 2005).

O solo é habitado por diversos organismos e os ácidos nucleicos extraídos do solo compreendem uma miscelânea de DNA e/ou RNA de bactérias, plantas, fungos, pequenos animais e protozoários (Costa, 2011). A utilização de técnicas moleculares pode nos auxiliar a compreender o comportamento das comunidades microbianas dentro de um determinado ambiente. Esta técnica foi utilizada no estudo da diversidade de comunidades fúngicas em ambientes de decomposição de madeira, baseada na amplificação do gene 18S do rDNA (Vainio e Hantula, 2000).

A técnica de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) é bastante utilizada nos estudos de ecologia microbiana. Esta técnica é usada para separar fragmentos de DNA de mesmo tamanho, mas com sequência de bases nucleotídicas diferentes. Inicialmente é feita a amplificação do DNA através de PCR e um dos iniciadores apresenta uma região rica em G+C (grampo G-C) que visa impedir a total desnaturação da dupla fita de DNA durante a eletroforese. Os fragmentos obtidos por PCR são separados, de acordo com a sua composição nucleotídica, por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo gradiente desnaturante (uréia e formamida) que rompe as pontes de hidrogênio entre os nucleotídeos. A sequência de nucleotídeos determina o momento em que o DNA, inicialmente em fita dupla,

passará a adquirir uma estrutura de fita simples, e as duas fitas simples são mantidas ligadas pelo grampo (Xavier et al., 2004).

Comparando a estrutura e composição da comunidade bacteriana e fúngica do solo de uma área de Cerrado nativo e uma área em monocultura de soja, constatou-se a partir da análise do perfil de DGGE que a estrutura da comunidade microbiana é afetada pela estrutura e composição da cobertura vegetal (Bresolin et al., 2010).

A partir do perfil gerado pela técnica do DGGE, demonstrou-se que distribuição da comunidade de fungos no solo em área de cultivo convencional, monocultura e mata nativa está relacionada ao clima, vegetação e qualidade de matéria orgânica (Costa et al., 2012).

Estudando, pela técnica do DGGE, a distribuição das comunidades de bactérias e fungos em um perfil de solo de floresta na Itália, Agnelli et al. (2004) observaram que a DGGE de rDNA 16S revelou complexos padrões de bandas e indicou diferenças na estrutura da comunidade bacteriana de cada horizonte. Os padrões de DNA total dos horizontes superficiais foram caracterizados por uma maior diversidade do que as mais profundas, tal como indicado pelo grande número de bandas. Em contraste, padrões de bandas do 18S rDNA mostraram uma baixa diversidade de fungos.

Em trabalho realizado em solos da Argentina, a análise de agrupamento de perfis de DGGE mostrou que o uso do solo modificou a estrutura da comunidade microbiana, onde a comunidade microbiana presente em solo recém desmatado mostrou ser mais semelhante a do solo cultivado a 20 anos do que a floresta intocada (Montecchia et al., 2011).

## **2.5. Atividade microbiana em solos brasileiros**

Poucos estudos relacionando indicadores microbianos e cobertura vegetal foram realizados, geralmente as avaliações estão centradas em práticas agrícolas e pouco é abordado sobre o desmatamento, principalmente no bioma Caatinga.

Estudos realizados no nordeste do Brasil demonstram que a degradação do solo provoca redução da comunidade microbiana e sua atividade devido a perda da cobertura vegetal e erosão do solo (Nunes et al., 2012).

Em área de Cerrado constatou-se que após três meses de desmatamento ocorre redução do carbono da biomassa e respiração edáfica e atividade da  $\beta$ -glucosidase na camada mais superficial do solo, sendo mais acentuado nos cinco centímetros iniciais do solo (Mendes e Reis Júnior, 2004). Bresolin et al. (2010) acrescentaram ainda que a variação sazonal e o uso da terra causa impacto na composição e estrutura das comunidades de fungos e bactérias do solo em áreas do Cerrado

brasileiro. Recentemente, Costa et al. (2012) sugeriram que a variação sazonal é considerada um dos principais fatores que determinam a comunidade microbiana do solo.

Em área de Mata Atlântica, Chaer et al. (2009) comparam atividade microbiana em um fragmento de Mata Atlântica e de um campo agrícola adjacente, observando maior biomassa e atividade microbiana em solo sob mata natural, que mostrou uma maior estabilidade funcional em comparação com o campo agrícola. Mais tarde Silva et al. (2012) realizaram estudo comparativo entre áreas de capoeira (=mata de regeneração), mata preservada e cultivo de cana-de-açúcar, e de modo geral, a atividade microbiana, medida pela atividade das enzimas, foi maior na mata preservada e capoeira do que em cultivo.

### **2.5.1. Atividade microbiana do solo em condições semiáridas**

A atividade microbiana do solo pode ser afetada pelas respostas dos ambientes à condição climática da região, principalmente em ambientes semiáridos que apresentam como principal limitação a deficiência hídrica, por isso, solos desta região estão sujeitos à grandes desequilíbrios ambientais (García et al., 1994).

Analisando a variabilidade de atributos químicos e microbianos de solos, visando utilizá-los como indicadores de processos de desertificação em áreas sob níveis crescentes de degradação na região semiárida do Estado de Pernambuco, Martins et al. (2010) verificaram que a sazonalidade afeta os atributos do solo, sendo essa mudança mais perceptível no ambiente degradado.

Em clima Mediterrâneo, García et al. (2002) observaram que o declínio da cobertura vegetal afetava os parâmetros químicos e microbiológicos, constatando-se redução nos valores de CBM, RES e  $qCO_2$ . Diminuição da biomassa e sua atividade devido a perda da cobertura vegetal foram observadas por Bastida et al. (2006) avaliando a atividade microbiana em solo degradado em regiões do semiárido da Espanha.

Nesta mesma condição na Espanha, constata-se que a remoção da vegetação tem efeito negativo sobre o carbono da biomassa microbiana, a matéria orgânica e atividade enzimática do solo, sendo este fato observado mesmo após 15 anos do desmatamento (Bastida et al., 2006b).

Em áreas do Semiárido brasileiro, Wick et al. (2000) observaram diminuição do CBM, da atividade da fosfatase e  $\beta$ -glicosidase devido a substituição da caatinga por pastagem, ressaltando que as árvores preservadas formavam “ilhas” de fertilidade, contribuindo para preservação da qualidade do solo. Estes autores constataram ainda, que os parâmetros microbiológicos e bioquímicos do solo responderam mais rapidamente as mudanças na vegetação do que os índices

químicos de fertilidade, sendo importantes atributos na avaliação dos impactos devido à alteração na vegetação.

Nesta mesma região, em áreas cultivadas com *Atriplex nummularia* e com caatinga nativa constata-se maior atividade microbiana (hidrólise do FDA) no período seco, porém a atividade da fosfatase alcalina era maior na área cultivada, fato que os autores atribuíram ao aumento do número de micro-organismos (Pereira et al., 2004).

Estudo comparando a atividade microbiana do solo em mata natural e sob pastagens no Brasil, demonstram que a conversão da mata natural em pastagem não promoveu mudanças no conteúdo de matéria orgânica do solo, tendo a mata natural apresentado maior atividade da FDA, biomassa microbiana e taxa de respiração basal devido ao maior aporte de resíduos vegetais, que fornecem C disponível e mantêm alta biomassa microbiana (Lopes et al., 2010).

A importância da incorporação de resíduos vegetais para melhoria nas condições químicas e físicas do solo e desenvolvimento da comunidade microbiana do solo foi demonstrada em área do semiárido brasileiro (Pimentel et al., 2011), onde a utilização de adubo verde favoreceu a biomassa microbiana do solo.

### 3. Estrutura da comunidade de fungos e atributos edáficos após desmatamento de uma área do semiárido brasileiro

#### 3.1. Resumo

A Caatinga é um bioma exclusivo do semiárido brasileiro, caracteriza-se pela vegetação de fisionomia variada, adaptada as condições de aridez desse ecossistema. Este bioma vem sendo gradativamente impactado pelo desmatamento e uso inadequado dos recursos naturais, o que tem resultado em diminuição na qualidade do solo e perda na diversidade das comunidades microbianas desse ecossistema. Considerando a necessidade de avaliar o impacto da retirada da vegetação sobre os micro-organismos do solo e a qualidade edáfica, objetivou-se comparar a estrutura e a atividade da comunidade microbiana em solos de caatinga nativa e após o desmatamento. Amostras de solo foram coletadas em área de caatinga nativa ( $T_0$ ), após 60 ( $T_1$ ), 106 ( $T_2$ ) e 160 ( $T_3$ ) dias do desmatamento, em Petrolina, PE. Avaliaram-se: atividade enzimática, carbono da biomassa microbiana, respiração microbiana, quociente metabólico, ergosterol no solo e estrutura da comunidade microbiana por DGGE. Os valores de CBM e a fosfatase ácida foram maiores em  $T_0$ . A atividade microbiana foi maior nos solos de mata natural ( $T_0$ ) e com o maior teor de umidade ( $T_3$ ), sugerindo que a presença da vegetação e os conteúdos de umidade do solo são fatores que contribuem para o funcionamento microbiano nesses solos. A retirada da vegetação natural da Caatinga afeta as propriedades químicas e biológicas do solo em um curto espaço de tempo, alterando também a estrutura da comunidade fúngica do solo. A mudança na umidade do solo em decorrência da chuva no  $T_3$  é um fator importante a ser considerado nas mudanças ocorridas nas propriedades do solo nesse período, sendo o carbono da biomassa microbiana o indicador mais sensível a esta variação.

Palavras chave: desmatamento, carbono da biomassa microbiana, ergosterol, DGGE, atividade enzimática

### 3.2. Introdução

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, recobrando as terras semiáridas da Região Nordeste e ocupando 10% do território brasileiro (MMA, 2007). O semiárido brasileiro é caracterizado por apresentar precipitações médias anuais inferiores a 800 mm, temperaturas médias anuais de 23° a 27° C e umidade relativa do ar média em torno de 50% (Moura et al., 2007). A estação chuvosa do semiárido nordestino não são os mesmos para toda a região, mas concentram-se em sua maioria entre os meses de dezembro a abril, sendo influenciada pelos oceanos tropicais e fatores de circulação atmosférica de escala global e regional (Moura et al, 2007; Teixeira, 2010). A vegetação contribui para manutenção do equilíbrio no ecossistema, sendo este facilmente perturbado por atividades humanas e de forma mais acentuada nas regiões semiáridas (Oliveira, 2004; Bastida et al., 2006a), cuja principal limitação é a disponibilidade hídrica (Martins et al., 2010).

Esse bioma vem sendo constantemente ameaçado pelo uso intensivo dos seus recursos naturais, o que tem levado à rápida perda de espécies únicas, à eliminação de processos ecológicos chaves e à formação de extensos núcleos de desertificação em várias áreas dessa região (Leal et al., 2003). Dados do Ministério do Meio Ambiente estimam que pouco mais de 45 % da área da Caatinga foram desmatados até 2009 (MMA, 2011). Esse bioma tem vivenciado muitas transformações ao longo da sua história, cada vez mais alterados, em função da vasta substituição de espécies vegetais nativas por cultivos e pastagens. O desmatamento e o uso inadequado dos recursos naturais são considerados os principais motivos para a crescente degradação da Caatinga (Correia et al., 2009). A remoção da vegetação nativa, além de perda de diversidade, atinge todo o equilíbrio do ecossistema, tornando o solo mais suscetível à erosão ocasionando diminuição nos conteúdos de matéria orgânica, nutrientes e na atividade da microbiota.

O solo é um recurso natural que atua e interage com as comunidades biológicas, sendo fundamental para a manutenção de qualquer ecossistema terrestre e sua conservação garante a sustentabilidade da floresta e das atividades agrícolas. Por outro lado, o desmatamento pode levar à degradação do solo reduzindo significativamente a resistência e a resiliência dos ecossistemas alterados, principalmente devido à perda da comunidade microbiana do solo (Balieiro et al., 2005).

A comunidade microbiana participa ativamente no funcionamento do solo, principalmente nas transformações da matéria orgânica do solo e na ciclagem de nutrientes, matéria e energia (Frouz e Novákova, 2005), atuando como reservatório de nutrientes no solo (Lopes et al., 2010). Por participarem de funções importantes no solo e apresentarem maior sensibilidade às variações

ambientais do que os atributos químicos e físicos, os micro-organismos e suas atividades podem ser utilizados para indicar as mudanças causados pelo desmatamento, como carbono da biomassa microbiana, respiração edáfica basal, atividade enzimática (Garcia et al., 2004, Bastida et al., 2006, Martins et al., 2010). Os impactos podem ser verificados pelas mudanças na diversidade taxonômica e funcional dos organismos do solo (Carneiro et al., 2008; García et al., 2002).

Entre os organismos afetados por ações antrópicas nos solos estão os fungos, considerados os mais importantes decompositores da cadeia alimentar, sendo portanto fundamentais na manutenção e funcionalidade do bioma (Fracetto et al., 2013). É essencial entender como essas comunidades respondem aos vários distúrbios naturais ou antrópicos, dessa forma a eletroforese em gel com gradiente desnaturante-DGGE, pode ser utilizada como ferramentas para esta avaliação em diversas situações, como uso do solo (Costa et al., 2012), diferentes composições da cobertura vegetal (Bresolin et al., 2010) e desmatamento (Mortecchia et al 2011), assim como os conteúdos de ergosterol no solo, (Djajakirana et al., 1996; Dinesh et al, 2003).

O monitoramento das propriedades do solo são importantes para avaliar a sustentabilidade das práticas agrícolas e suprir a ausência de dados, além de sinalizar o manejo adequado do ambiente visando à sua conservação e produtividade (Fialho et al., 2006), além disso o conhecimento de como a diversidade microbiana e sua função são afetadas pelas consequências do desmatamento é fundamental para a aplicação de práticas sustentáveis neste ambiente.

Alguns estudos realizados no semiárido do nordeste do Brasil demonstram que a retirada da vegetação natural provoca a degradação do solo, reduzindo conseqüentemente o potencial produtivo dessas áreas (Sampaio e Araújo, 2005; Menezes et al, 2005), poucos trabalhos trazem a relação entre micro-organismos do solo e cobertura vegetal em clima semiárido, destacando-se o estudos realizados na Espanha (Garcia et al., 2002; Bastida et al., 2006), semiárido brasileiro (Martins et al., 2010; Pimentel et al., 2011; Nunes et al., 2012) e com ênfase em áreas de caatinga (Wick et al., 2000; Pereira et al., 2004). No entanto, poucos são os trabalhos que envolvem variáveis químicas e microbianas do solo na região semiárida e principalmente em áreas desmatadas. Assim o objetivo desse estudo foi avaliar as mudanças na atividade da comunidade microbiana do solo e nos conteúdos de biomassa fúngica devido à retirada da cobertura vegetal em condições semiáridas em um curto período de tempo.

### **3.3. Material e Métodos**

#### **3.3.1. Área de estudo**

O estudo foi realizado no Campo Experimental da Caatinga, Embrapa Semiárido, Petrolina - Pernambuco, Brasil (9° 4' S e 40°20' O) em uma área de aproximadamente 1100 m<sup>2</sup>. O clima da região é do tipo 'BSwh', segundo a classificação de Koppen, clima semiárido com baixo regime pluviométrico, a precipitação e temperatura média anual foram, respectivamente, de 0,96 mm e 26 °C, no período de estudo.

A área de caatinga estudada apresentava a vegetação do tipo *stricto sensu*, caracterizada por vegetação xerófitas, com folhas decíduas, presença de espinhos ou acúleos, área foliar reduzida e de baixo porte, atingindo entre 4 a 7 m. O solo da área de estudo é do tipo Argissolo Vermelho Amarelo, textura arenosa (areia 65%; silte 35% e argila 5%). Os solos foram coletados antes e após o desmatamento, na caatinga nativa (T<sub>0</sub>) e após desmatamento com 60 (T<sub>1</sub>), 106 (T<sub>2</sub>) e 160 (T<sub>3</sub>) dias.

### 3.3.2. Amostragem do solo

A área foi dividida em quatro parcelas de 16 m e as amostras de solo foram coletadas em diferentes tempos amostrais de uma mesma área (subsequentes, após o desmatamento) denominadas de T<sub>0</sub> (vegetação nativa), T<sub>1</sub> (60 dias após o desmatamento), T<sub>2</sub> (106 dias após o desmatamento) e T<sub>3</sub> (160 dias após o desmatamento), esse período foi compreendido entre os anos de 2011 e 2012. Em cada etapa foram coletadas 20 amostras de solo, sendo cinco por parcela, na profundidade 0-10 cm para a formação de quatro amostras compostas. Análises físico-químicas foram realizadas a partir do solo fresco, para caracterização da estrutura da comunidade microbiana (DGGE) e quantificação da biomassa de fungos (ergosterol) parte do solo foi armazenada a -20 °C e a 4 °C para a análise das propriedades biológicas do solo. Restos de plantas e raízes foram cuidadosamente removidos antes das análises microbiológicas.

### 3.3.3. Análise das propriedades do solo

As análises físicas e químicas do solo foram mensuradas no Laboratório de Análise de Solo e de Plantas da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE de acordo com Embrapa (1999). O pH do solo foi avaliado em solução de solo/água destilada (1:2,5 v/v) em potenciômetro (Embrapa, 1999). A temperatura do solo foi mensurada no momento da coleta utilizando um termômetro de solo com sonda acoplada. A umidade do solo foi determinada gravimetricamente após secagem de 2 g de solo em estufa (105 °C/24h) e os valores expressos em percentual de umidade presente no solo (Debosz et al., 1999).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado utilizando o método de fumigação-extração com clorofórmio de acordo com Vance et al. (1987) modificado por De-Polli e Guerra (1997). Amostras fumigadas e não fumigadas foram submetidas a extração com KOH (0,5 M) e a quantificação do CBM obtida por titulação com sulfato ferroso amoniacal (0,033 N). Foi utilizado o fator de correção,  $K_c$  de 0,38 (Vance et al., 1987). A respiração basal do solo foi determinada incubando-se o solo em frasco rosqueável com 25 mL de KOH (0,05 N) por 3 dias e quantificando o  $CO_2$  por titulação com HCl (0,01 N) (Alef, 1995). O  $qCO_2$  foi determinado pela razão entre o carbono do  $CO_2$  liberado e o carbono da biomassa microbiana do solo (Anderson & Domsch, 1985). O carbono orgânico total foi determinado de acordo com Cantarella & Quaggio (2001). A transformação dos valores de matéria orgânica para carbono orgânico foi feita pela relação  $MO = 1,724 \times CO$  (Alvarez et al., 1999). A atividade de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi realizada segundo Swisher & Carrol (1980). Para análise das atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida foram seguidos, respectivamente, os protocolos de Eivazi e Tabatabai, (1988) e Tabatabai e Bremmer (1969), exceto pelo uso de tolueno nos dois casos. Para cada enzima foram utilizados substratos específicos em soluções tamponadas. Foram utilizados 1 mL das soluções de  $p$ -nitrofenil- $\beta$ -D-glucosídeo (25 mM) para a  $\beta$ -glicosidase e  $p$ -nitrofenil-fosfato (0,05 M) para a atividade fosfatase ácida, respectivamente. O  $p$ -nitrofenol liberado foi extraído por filtração e determinado colorimetricamente a 400 nm. As análises foram realizadas em triplicatas.

#### 3.3.4. Extração de Ergosterol e DNA do solo – DGGE

A biomassa fúngica foi determinada pelo teor de ergosterol no solo segundo Malosso et al (2004). Após a extração o ergosterol foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) equipado com coluna  $C_{18}$ , usando metanol na fase móvel, o tempo de retenção foi, em média, 7 min.

O DNA total das amostras de solo foi extraído a partir de 0,25 g de solo, utilizando Kit específico (Soil DNA Isolation kit, Norgen Biotek Corporation). As reações de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foram realizadas em microtubos contendo 5  $\mu$ L de DNA, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM  $MgCl_2$ , 0,2 mM de cada dNTP, 0,5  $\mu$ M de cada iniciador (516F e 13R, descritos por Fredericks e Relman (1998) como universais para eucariotos e 2.5 unidades de Taq DNA Polimerase de alta fidelidade em um volume final de reação de 50  $\mu$ L. A reação resultou

em um fragmento de 300 pb. O programa térmico de amplificação constou de uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. Após os 30 ciclos, o produto amplificado foi submetido à extensão final por 7 minutos à 72 °C. Os resultados das PCRs foram analisados em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo e visualizados sob luz UV. A técnica de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) do gene 18S do rDNA foi realizada de acordo com Malosso et al. (2006). Produtos de PCR foram separados em gel de acrilamida a 6% com gradiente de desnaturação que variou de 20 a 30% (uréia e formamida). A eletroforese foi realizada a 200 V, 60 °C, durante aproximadamente 4 horas. Após a eletroforese, o gel foi corado com SYBR Green I (Invitrogen) e visualizado em transiluminador de luz UV. As imagens dos géis foram digitalizadas e tratadas utilizando o software Quantity One 4.4.0 (Série Discovery, BioRad).

### 3.3.5. Análise dos dados

As propriedades biológicas foram submetidas à análise de variância e quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% utilizando o programa Statistica (Statsoft 1997).

Técnicas de análise multivariadas foram usadas para avaliar os efeitos do tempo de desmatamento sobre as propriedades biológicas do solo na área de Caatinga. As propriedades químicas, físicas e biológicas do solo foram ordenadas usando o escalonamento multidimensional não métrico (NMS) (Kruskal, 1964) e a distância de Sørensen. Uma matriz secundária foi usada para correlacionar as variáveis químicas, físicas e biológicas do solo (temperatura do ar e do solo, umidade do solo, precipitação, pH, fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na), potássio (K) e CTC, carbono da biomassa microbiana, atividade enzimática, teor de ergosterol e carbono orgânico do solo) com a matriz primária, visando verificar as relação entre as variáveis analisadas em função do desmatamento. Antes da ordenação, foi realizada a relativização dos dados da matriz primária (dados microbiológicos) na coluna para padronizar a escala das diferentes variáveis. Diferenças estatísticas dos parâmetros microbiológicos entre os tempos amostrais foram testadas usando o procedimento de permutação de multirespostas (MRPP, Mielke e Berry, 2000) com base na distância de Sørensen. As análises multivariadas (NMS e MRPP) foram realizadas com auxílio do programa PC-ORD versão 6.0 (McCune & Mefford, 2011).

A construção do dendrograma para representar a estrutura da comunidade fúngica ao longo do tempo foi realizada com o Programa Primer 6.0 (Clarke & Gorley, 2006), utilizando o método complete linkage e o coeficiente de similaridade de Sørensen.

### 3.4. Resultados

*Propriedades químicas, físicas e biológicas do solo antes e após o desmatamento em área de caatinga nativa (Análise univariada)*

O pH do solo diminuiu com o decorrer do tempo de desmatamento da área e não apresentou diferença entre os três últimos tempos (60, 106 e 160 dias), enquanto que os valores de Na foram maiores no solo com vegetação nativa. Os teores de P, Al, Ca, H+Al não diferiram entre os tempos avaliados. Os valores de K, Mg, H e a CTC efetiva e total aumentaram após a retirada da vegetação nativa, mantendo os valores elevados até 106 dias do desmatamento. Após 160 dias esses valores diminuíram ficando semelhantes aos encontrados no solo com vegetação nativa. O maior teor de umidade foi registrado em T<sub>3</sub>, devido a precipitação pluviométrica nesse período de coleta.

**Tabela 1.** Caracterização química e física do solo nos períodos de coleta em Caatinga nativa (T<sub>0</sub>) e desmatada (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>), Petrolina, Pernambuco.

Tempos	pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	Na	Al	Mg	Ca	H <sup>+</sup>	H+Al	CTC efetiva	CTC total	Umidade
		mg dm <sup>-3</sup>					cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%
T <sub>0</sub>	6,3 a	5,4 a	0,25 c	0,06 a	0,05 a	1,3 ab	2,55 a	4,44 b	4,49 a	4,26 ab	8,71 b	1,83 b
T <sub>1</sub>	6,0 ab	4,9 a	0,40 a	0,03 b	0,05 a	1,6 a	3,00 a	5,39 a	5,11 a	5,17 a	10,23 a	0,65 c
T <sub>2</sub>	5,5 b	4,7 a	0,34 ab	0,02 c	0,04 a	1,6 a	2,67 a	6,14a	5,94 a	4,74 a	10,63 a	1,78 b
T <sub>3</sub>	5,5 b	4,0 a	0,30 bc	0,03 bc	0,08 a	1,0 b	2,30 a	5,19 ab	5,28 a	3,75 b	9,11 b	2,74 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). Caatinga nativa (T<sub>0</sub>) e após desmatamento com 60 (T<sub>1</sub>), 106 (T<sub>2</sub>) e 160 (T<sub>3</sub>) dias.

Em relação aos indicadores biológicos como hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), atividade da  $\beta$ -glicosidase e teor de ergosterol não apresentaram valores diferindo significativamente entre os tempos amostrais (Tabela 2).

Observa-se que os valores de CBM foram reduzindo após a retirada da vegetação, porém com a precipitação ocorrida no período de T<sub>3</sub>, aumentando a umidade do solo constata-se maior

valor de CBM. Os solos amostrados em T<sub>3</sub> apresentaram maior incorporação de carbono nas células microbianas e menor perda de C-CO<sub>2</sub> pela respiração edáfica. Em condições semiáridas a água é um fator limitante importante, dessa forma, a umidade do solo, proveniente da precipitação em T<sub>3</sub>, parece ter sido a propriedade física que mais influenciou os processos de incorporação e perda de carbono pelos micro-organismos do solo. O menor valor de  $q\text{CO}_2$  em T<sub>3</sub> indica que houve maior eficiência da microbiota do solo na utilização do carbono, mesmo após 160 dias de desmatamento. No entanto, quando a área de vegetação nativa é comparada com as demais áreas desmatadas, embora não tenha havido diferença no CBM entre a área de caatinga nativa e as áreas desmatadas com 60 e 106 dias (T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>), observou-se diminuição no conteúdo de CBM no solo após 106 dias de desmatamento. Os maiores valores de CBM e respiração edáfica basal foram registradas no T<sub>0</sub>, que registrou também o menor  $q\text{CO}_2$  (Tabela 2).

Os menores valores da atividade da fosfatase ácida foram registrados após 106 dias de desmatamento, no entanto, a atividade desta enzima aumenta em T<sub>3</sub> não diferindo estatisticamente de T<sub>0</sub> e T<sub>1</sub>, fato que pode ter sido influenciada pela umidade do solo no T<sub>3</sub> (Tabela 2).

**Tabela 2.** Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), respiração edáfica basal (RES), quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), hidrólise do FDA, atividades da  $\beta$ -glucosidase e da fosfatase ácida e teor de ergosterol (ERG) no solo em área sob caatinga nativa (T<sub>0</sub>) e após desmatamento com 60 (T<sub>1</sub>), 106 (T<sub>2</sub>) e 160 (T<sub>3</sub>) dias.

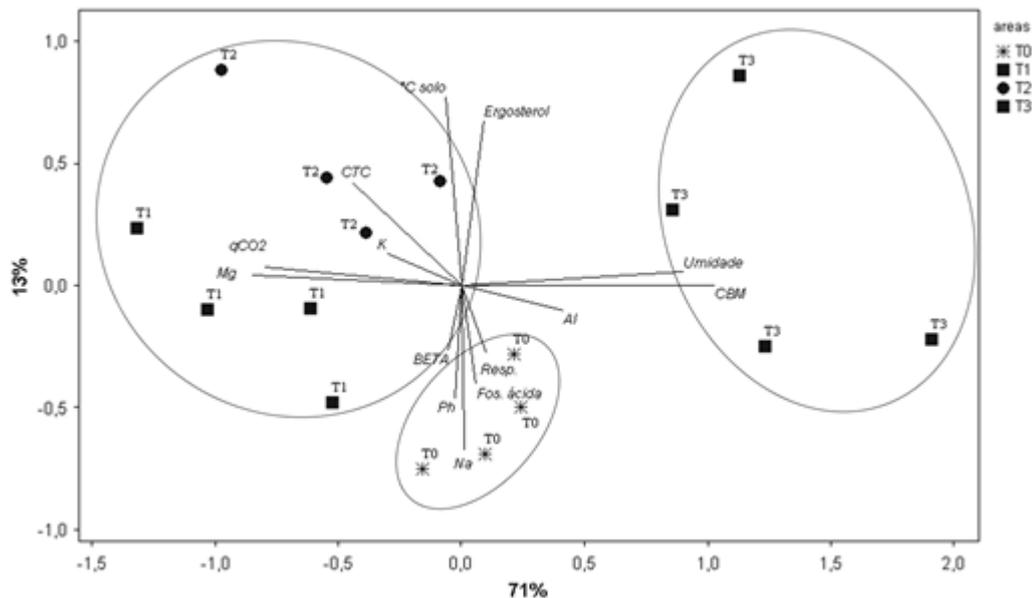
Tempos	CBM	RES	$q\text{CO}_2$	FDA	$\beta$ -glicosidase	Fosf. ácida	ERG
	$\mu\text{g de C g}^{-1}$ solo	$\text{CO}_2\mu\text{g}^{-1}$ $^1\text{solo.dia}^{-1}$	$\mu\text{g CO}_2\mu\text{g}$ Biomassa $^{-1}\text{d}^{-1}$	$\mu\text{g fluoresceína}$ $\text{g}^{-1}\text{ solo h}^{-1}$	$\mu\text{g } \rho\text{-nitrofenol. g}^{-1}$ $^1\text{ solo.h}^{-1}$	$\mu\text{g } \rho\text{-nitrofenol. g}^{-1}$ $\text{g}^{-1}\text{ solo.h}^{-1}$	$\mu\text{g ergosterol g}^{-1}$
T <sub>0</sub>	249,3 b	36,6 a	0,14 ab	60,3 a	4,2 a	18,4 a	0,63 a
T <sub>1</sub>	107,5 b	15,1 b	0,23 a	60,1 a	3,4 a	15,2 a	0,63 a
T <sub>2</sub>	76,7 b	16,9 b	0,22 a	60,3 a	3,0 a	11,1 b	1,25 a
T <sub>3</sub>	620,5 a	20,2 b	0,03 b	64,0 a	2,5 a	15,4 a	1,53 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste Duncan ( $p < 0,05$ )

*Efeito do desmatamento sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Análise multivariada)*

Aproximadamente 84% da variação dos dados foram representadas em um gráfico NMS bi-dimensional, o eixo 1 representou 71% da variação dos dados e o eixo 2 apenas 13% (Figura 1).

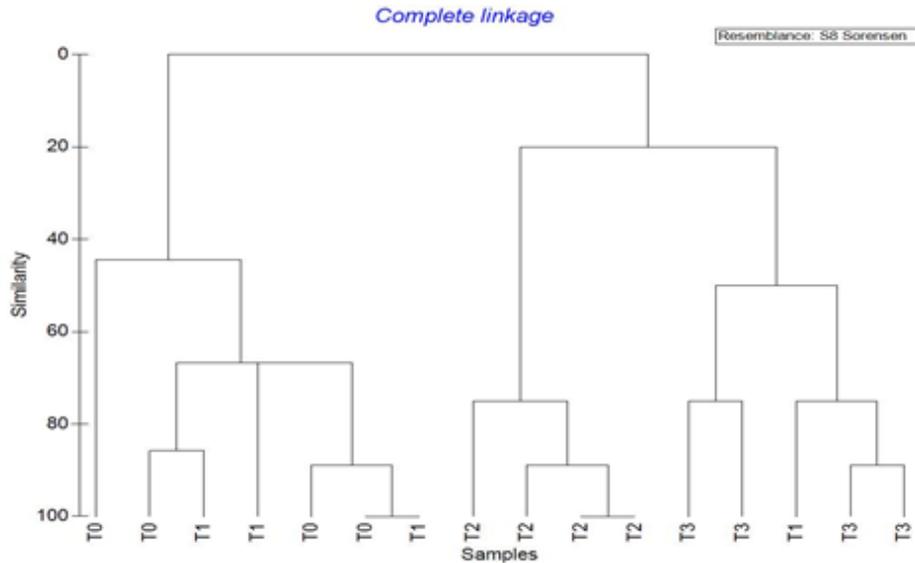
Carbono da biomassa microbiana,  $qCO_2$ , umidade, Mg, Al e CTC foram predominante associados ao eixo 1, enquanto a fosfatase ácida, pH, temperatura, Na, CTC e ergosterol foram associados ao eixo 2. As mudanças nas propriedades do solo da área de caatinga nativa formaram três grupos distintos em relação ao tempo de desmatamento. Diferenças significativas foram observadas entre os tempos  $T_0$  e  $T_3$  e os demais tempos de amostragens  $T_1$  e  $T_2$  que não diferiram entre si ( $p < 0,01$ ) (Figura 1).



**Figura 1.** Escalonamento multidimensional não métrico (NMS) a partir de dados de carbono da biomassa microbiana do solo, respiração edáfica basal, atividade da fosfatase ácida e da  $\beta$ -glicosidase, hidrólise do FDA, carbono orgânico do solo e teor de ergosterol, com vetores relacionados às propriedades físicas e químicas do solo em amostras de solo de caatinga nativa ( $T_0$ ) e desmatada com 60 dias ( $T_1$ ), 106 dias ( $T_2$ ) e 160 dias ( $T_3$ ). As elipses correspondem aos diferentes grupos formados de acordo com a análise de MRPP.

A análise de agrupamento dos perfis de DGGE mostrou que a estrutura da comunidade de fungos foi diferente entre os períodos amostrais (Figura 2). Baseado em similaridade de aproximadamente 70%, foi formado um grupo composto por  $T_0$  e  $T_1$ . Os períodos amostrais  $T_2$  e  $T_3$

foram claramente separados dos demais, com similaridade de apenas 20%. A análise dos padrões de bandas dos géis demonstrou que houve diferença na estrutura das comunidades microbianas ao longo dos períodos amostrais, visto que T<sub>3</sub> formou um único grupo (Figura 2).



**Figura 2:** Análise de agrupamento baseada nos perfis de bandas de DGGE de solos de área de caatinga nativa (T<sub>0</sub>), e após 60 (T<sub>1</sub>), 106 (T<sub>2</sub>) e 160 (T<sub>3</sub>) dias de desmatamento, no município de Petrolina, Pernambuco.

### 3.5. Discussão

O efeito negativo do desmatamento sobre algumas propriedades do solo estudado foi observado em função do tempo de desmatamento, no entanto, algumas variáveis parecem ter sido influenciadas positivamente devido à ocorrência de chuva na região durante o último período de coleta.

A CTC é uma das características mais importantes do solo, sendo ocupada principalmente por cátions essenciais como Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e K<sup>+</sup>, podendo ser ocupada também por cátions Al<sup>3+</sup> e H<sup>+</sup> (Tomé Júnior, 1997). Dessa forma, os maiores valores registrados na CTC<sub>efetiva</sub> nos tempos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> podem ser explicados pelo aumento na disponibilidade de Mg<sup>2+</sup> e K<sup>+</sup>, ocorridos provavelmente devido à degradação da matéria orgânica em decorrência do desmatamento. O aumento da CTC<sub>total</sub> pode ser explicada ainda pelo aumento nos valores de H<sup>+</sup>, constatados nos tempos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>. O aumento nos valores desse cátion indica um empobrecimento do solo, pois, quando a CTC é

ocupada por cátions potencialmente tóxicos como o  $H^+$ , sobram poucas cargas para os cátions nutrientes, importantes na manutenção da fertilidade do solo e no desenvolvimento das plantas (Ronquim, 2010).

A umidade do solo foi o fator que mais influenciou a separação de  $T_3$  dos demais tempos amostrais ( $T_1$  e  $T_2$ ), similarmente, Martins et al. (2010) observaram que o aumento da quantidade de água, provinda da precipitação, proporcionava condição favorável ao desenvolvimento de microorganismos do solo, em áreas sob níveis crescentes de degradação na região semiárida do estado de Pernambuco.

O desmatamento da vegetação de caatinga reduziu gradativamente o CBM indicando os efeitos adversos desta prática sobre a microbiota do solo, este fato foi registrado também em região semiárida da Espanha, com vegetação composta por *Pinus halepensis* Mill. e arbustos característicos da região (Bastida et al., 2006b). Com a perda da cobertura vegetal (por corte, queima ou pastoreio), a exposição do solo desnudo promove a formação de uma crosta superficial, que reduz a infiltração da água e a possibilidade de estabelecimento de cobertura vegetal (Galindo et al., 2008), além de proteger fisicamente o solo, o desenvolvimento vegetal tem um efeito positivo sobre a comunidade microbiana e sua atividade, elevando o conteúdo de matéria orgânica (Bastida et al., 2008b), visto que a baixa quantidade de matéria orgânica no solo resulta em baixo C lábil capaz de sustentar o desenvolvimento da microbiota, o que pode inibir sua atividade (Albuquerque et al., 2008).

Por outro lado, o aumento da umidade do solo afetou positivamente a quantidade de CBM após 160 dias do desmatamento. Embora o menor valor de CBM tenha sido observado em  $T_2$  que apresenta umidade maior que  $T_1$ , estes resultados podem sugerir que o tempo mantido em determinada umidade pode não ter sido suficiente para aumentar o CBM. Em solos de ambientes áridos, caracterizados pela baixa quantidade de água disponível, a biomassa microbiana tende a aumentar em épocas com maior disponibilidade de água e temperaturas amenas, pois baixos valores de umidade do solo restringem o crescimento microbiano (Chen et al. 2003; Ottutumi et al, 2004; Martins et al, 2010). Dentre as variáveis climáticas, a precipitação é um dos fatores que mais influencia a atividade microbiana, principalmente em condições semiáridas (Bastida et al., 2006b). Segundo Bastida et al. (2008b), nas estações com elevada precipitação ocorre aumento da produção vegetal, como crescimento de pequenas herbáceas nos locais desmatados, e maior acúmulo de C no solo, o que pode ter refletido em aumento nos valores no CBM no  $T_3$ , uma vez que foi possível observar o crescimento de vegetais no local.

As áreas com vegetação nativa apresentam maior liberação do CO<sub>2</sub> pela REB do que as áreas degradadas (Martins et al., 2010). Resultados similares foram encontrados em áreas do semiárido espanhol, nas quais maiores valores de REB eram registrados quando a cobertura vegetal era maior (García et al., 2002). Em nosso estudo, constatamos que a retirada da vegetação da caatinga reduziu em aproximadamente 50% a REB. Embora em T<sub>3</sub> tenha sido observado um “pool” no CBM, a respiração microbiana manteve-se menor do que a encontrada na área com vegetação de caatinga (T<sub>0</sub>). Além da quantidade de micro-organismos, as fontes de energia oriundas da matéria orgânica, também influenciam a respiração edáfica, que pode variar com o clima e alterações no solo (Bastida et al., 2008). Em área com caatinga nativa no semiárido paraibano ocorreu maior liberação de CO<sub>2</sub> do que em área de plantio com bananeira, sendo este resultado atribuído ao teor de CBM (Fialho et al., 2006).

De acordo com Islam e Weil (2000), altas taxas de respiração edáfica podem ocorrer tanto como resultado na oferta de grandes quantidades de C lábil ou em resposta a fatores estressantes. Assim, alta respiração edáfica pode indicar estresse ecológico ou alto nível de produtividade dos ecossistemas. Na área estudada a respiração parece indicar uma maior produtividade e capacidade de degradação da matéria orgânica pelos micro-organismos na área de caatinga antes do desmatamento, uma vez que em geral a emissão de CO<sub>2</sub> está relacionada a ciclagem do carbono, essencial ao funcionamento equilibrado em áreas naturais (Epron et al., 2006).

A taxa respiratória e os valores de CBM indicam o potencial de reserva de C no solo, esses dados permitem estimar o acúmulo e a perda de C em função das condições edáficas e mudanças ambientais nos ecossistemas (Gama-Rodrigues e Gama-Rodrigues 2008).

Os maiores valores de  $q\text{CO}_2$  foram observados em T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> diferindo do menor valor encontrado em T<sub>3</sub>. Os menores valores de  $q\text{CO}_2$  em T<sub>3</sub> podem ser atribuídos à maior umidade do solo e aumento no CBM, visto que valores baixos de  $q\text{CO}_2$  no solo indicam uma comunidade microbiana estável, sob condições favoráveis ao seu crescimento (Jakelaitis et al., 2008).

Os maiores valores de  $q\text{CO}_2$  observados em T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> podem indicar uma comunidade microbiana metabolicamente ineficiente na utilização de carbono como energia (Chaer, 2001). Elevados valores de  $q\text{CO}_2$  indicam também estresse sobre os micro-organismos, visto que para que ocorra reparação dos danos causados por distúrbios no solo é necessário o desvio de energia do crescimento e reprodução para a manutenção celular, gerando grande quantidade de carbono da biomassa perdida como CO<sub>2</sub> (Matias et al., 2009).

Ainda que não tenha sido observada diferença significativa com a retirada da cobertura vegetal, observa-se redução gradativa da atividade da  $\beta$ -glicosidade, com menor valor encontrado em T<sub>3</sub>. Tal fato pode ser decorrente da redução no aporte de matéria orgânica do solo devido a retirada da vegetação (Caravaca et al., 2002), indicando que solos mais degradados apresentam menores valores de  $\beta$ -glucosidase (Garcia et al., 1994). Esta enzima libera importantes fontes de energia necessária para o crescimento e desenvolvimento dos micro-organismos do solo. No entanto, assim como neste trabalho, em regiões semiáridas tropicais da África, manejadas com diferentes práticas de pousio, nenhuma relação foi observada entre a atividade da  $\beta$ -glucosidase e o carbono da biomassa microbiana (Badiane et al., 2001), o que pode ser explicado pelo fato desta enzima ser originada da atividade de outros organismos presentes no solo além da biomassa microbiana.

Os valores da atividade da fosfatase ácida encontrado no solo com vegetação nativa (T<sub>0</sub>) não diferiram do T1 e do T3. Os valores de atividade de hidrólise do FDA também não diferiram entre as áreas nos tempos de coleta. A atividade dessas enzimas não foi um indicador eficaz para a predição do efeito do desmatamento sobre a qualidade do solo nas áreas avaliadas.

Os valores de ergosterol no solo não diferiram significativamente entre os tempos amostrais. Considerando que a concentração desta substância está indiretamente correlacionada com a quantidade de biomassa fúngica (Ruzicka et al., 2000) e que sua quantidade diminui rapidamente somente após a morte celular (Djajakirana et al., 1996), o resultado obtido neste estudo pode indicar que o período entre os tempos amostrais não foi suficiente para que ocorressem mudanças acentuadas na comunidade fúngica.

As diferenças observadas entre os períodos de coleta, segundo a NMS, mostram que o desmatamento causou mudanças significativas no funcionamento microbiano (CBM, REB e atividade da fosfatase ácida) e nas propriedades químicas do solo (K, Na, Mg, H<sup>+</sup> e CTC) em um curto período de tempo, no caso dos locais estudados, a partir de 30 dias de desmatamento e que até os 60 dias há uma estabilidade desse processo. Por outro lado, a precipitação ocorrida em T<sub>3</sub> parece ter sido responsável por algumas mudanças nas propriedades do solo ocorridas nesse período. No gráfico gerado pela NMS, a umidade do solo e o CBM estão correlacionados ao T<sub>3</sub>, devido a maior precipitação nesse período. Em regiões semiáridas a combinação de baixos índices pluviométricos, variações temporais/espaciais e elevada evapotranspiração contribuem para a degradação do solo, principalmente nas áreas impactadas pela retirada da vegetação (Sampaio e Araújo, 2005). Ainda segundo a análise multivariada, as propriedades do solo relacionadas ao funcionamento enzimático

da microbiota foram correlacionadas com o T<sub>0</sub>, período no qual a vegetação nativa ainda estava presente na área de estudo. Áreas com vegetação natural possuem maior potencial de ciclagem de nutrientes, sendo caracterizadas por valores de atividade enzimática nos solos mais elevados, do que, áreas que sofreram algum tipo de impacto (Izquierdo et al., 2005).

A análise dos padrões de bandas dos géis demonstrou que houve diferença na estrutura das comunidades microbianas ao longo dos períodos amostrais, visto que T<sub>0</sub> e T<sub>3</sub> formaram clados bem distintos. Esses resultados corroboram com a ideia de que a diminuição da diversidade de plantas pode levar a mudanças na comunidade fúngica do solo, visto que maior diversidade de plantas poderia promover maior riqueza de espécies na comunidade microbiana, devido às interações que ocorrem na rizosfera e entre plantas e micro-organismos (Fracetto et al., 2013). As diferenças detectadas com a retirada da vegetação também podem ser verificadas entre sistemas agroflorestal e mata Atlântica (Costa et al., 2012) e entre coberturas vegetais distintas (Bresolin et al., 2010). As mudanças geradas pelo desmatamento sobre a estrutura da comunidade microbiana podem ser duradouras, visto que a análise de agrupamento da comunidade microbiana de solo recém-desmatado foi mais próxima a do solo cultivado a 20 anos do que a da floresta intocada (Montecchia et al., 2011).

### 3.6. Conclusões

A retirada da vegetação natural da Caatinga afeta as propriedades químicas e biológicas do solo em um curto espaço de tempo, o que foi demonstrado nos vales de CBM, REB, atividade da fosfatase ácida, pH, K, Na, Mg, H<sup>+</sup> e CTC. Embora algumas variáveis tenham sido influenciadas pela precipitação no último período de coleta, o impacto do desmatamento sobre o pH, a respiração edáfica basal e a atividade da fosfatase ácida foi maior a medida que o tempo de desmatamento aumenta.

Na Caatinga, a remoção da vegetação aumenta momentaneamente os conteúdos de K, Na, Mg, H<sup>+</sup>, CTC efetiva e CTC total, que voltam a diminuir após um período de aproximadamente 100 dias com a ausência de precipitação.

O desmatamento em áreas de Caatinga natural altera a estrutura da comunidade fúngica do solo. Porém, mesmo após a retirada da vegetação a comunidade se mantém estável por um curto período de tempo.

A mudança na umidade do solo em decorrência da chuva é um fator importante a ser considerado nas mudanças ocorridas nas propriedades do solo nesse período, sendo o carbono da biomassa microbiana o indicador mais sensível a esta variação.

### 3.7. Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de mestrado e PQ concedidas à V. L. Pereira e A. M. Yano-Melo, respectivamente. A Facepe pelo auxílio financeiro (AP1-1265-2.03/10). À equipe do Laboratório de Microbiologia da Univasf, à Embrapa Semiárido pelo apoio nas coletas e ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos (PPGBF/UFPE).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Martínez, V., Acosta-Mercado, D., Sotomayor-Ramírez, D., Cruz-Rodríguez, L. 2008. Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. *Applied soil ecology* 38:249–260.
- Agnelli, A., Ascher, J., Corti, G., Ceccherini, M.T., Nannipieri, P., Pietramellara, G., 2004. Distribution of microbial communities in a forest soil profile investigated by microbial biomass, soil respiration and DGGE of total and extracellular DNA. *Soil Biology & Biochemistry* 36:859- 868.
- Albuquerque, P. P. 2008. Diversidade de Glomeromycetes e atividade microbiana em solo sob vegetação nativa do semiárido de Pernambuco. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. (Tese de doutorado).
- Alef, K.; Nannipieri, P. (EDS.) Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London: Academic press, 1995. 576p.
- Alvarez V.; Novais, R.F.; Barros, N.F.; Cantarutti, R.B. & LopeS, A.S. 1999. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G. & Alvarez V., V.H., EDS. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação*. Viçosa, MG, Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, P.25-32.
- Alves, J.J. A., Araújo, M.A., Nascimento, S.S. 2008. *Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica*. Caminhos de Geografia, Uberlândia. v. 9, n. 27. p. 143 – 155.
- Alves, J.J.A. 2007. Geocologia da caatinga no semiárido do nordeste brasileiro. *Climatologia e estudos da paisagem*. Rio Claro. Vol.2, n1. Janeiro/junho, p.58.
- Anderson, T. H.; Domsch, K. H. 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and fertility of soils*, firenze, 81:89.
- Araújo, A.S.F., Melo, W.J. 2012. *Biomassa microbiana do solo*. Teresina, PI.
- Araújo, K.D., Parente, H.N., Correia, K.G., Andrade, A.P., Dantas, R.T., Pereira, W.E. 2008. Emissões de CO<sub>2</sub> sob área de Caatinga no Semiárido da Paraíba. Ver. Eletrônica do curso de Geografia do Campus Jataí. Jataí-GO. UFG. n. 10.
- Badiane, N.N.Y., Chotte J.L., Pate, E., Masse, D., Rouland, C. 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Applied Soil Ecology* 18: 229–238.
- Baldrian, P., Merhautová, V., Petránková, M. Cajthaml, T., Snajdr, J. 2010. Distribution of microbial biomass and activity of extracellular enzymes in a hardwood forest soil reflect soil moisture content. *Applied Soil Ecology* 46: 177–182.

- Baldrian, P., Vetrovsky, T., Cajthaml, P., Dobiášová, P., Petránková, M., Snajdr, J., Eichlerová, I. 2012. Estimation of fungal in forest litter and soil. *Fungal Ecology*.
- Balheiro, F.C.; Chaer, G.M.; Reis, L.L.; A.A. Franco., N.O. Franco. 2005. Qualidade do solo em áreas degradadas. In XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. SBCS/UFRPE/Embrapa Solos-UEP, Recife, PE, pp. CD-room.
- Balogh, J., Pintér, K., Fóti, Sz., Cserhalmi, D., Papp, M., Nagy, Z. 2011. Dependence of soil respiration on soil moisture, clay content, soil organic matter, and CO<sub>2</sub> uptake in dry grasslands. *Soil Biology & Biochemistry* 43: 1006-1013.
- Bastida, F., Barberá, G.G., García, C., Hernández, T. 2008b. Influence of orientation, vegetation and season on soil microbial and biochemical characteristics under semiarid conditions. *Applied Soil Ecology* 38:62–70.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernandez, T., García, C. 2006b. Microbiological activity in a soil 15 years after its revegetation. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 2503 – 2507.
- Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T., García, C. 2008a. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*, 147:159–171.
- Bastida, F.; Moreno, J.L.; Hernández, T.; García, C. 2006a. Microbial degradation index of soils in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 3463-3473.
- Bresolin, J.D.; Bustamante, M.M.C.; Krüger, R.H.; Silva, M.R.S.S.; Perez, K.S. 2010. Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian Cerrado. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40: 391-403.
- Cantarella, H.; Quaggio, J.A. 2001. *Determinação da matéria orgânica*. In: Análise química para Avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas. Instituto Agrônomo, Cap. 9:173-180.
- Caravaca, F., Masciandaro, G., Ceccanti, B. 2002. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil & Tillage Research* 68: 23–30.
- Carneiro, M.A.C., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., Soares, A.L.L. 2008. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa microbiana e atividade microbiana do solo em duas cronossequências de reabilitação após mineração de bauxita. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 621-632.
- Castelletti, C.H.M., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Santos, A.M.M. 2003. *Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar*. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T., Lins, L.V. (orgs.). Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. pp. 91-100.
- Chaer, G., Fernandes, M., Myrold, D., Bottomley, P. 2009. Comparative Resistance and Resilience of Soil Microbial Communities and Enzyme Activities in Adjacent Native Forest and Agricultural Soils. *Microb Ecol*, 58: 414–424.
- Chaer, G.M. 2001. Modelo para a determinação de índice da qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. (Tese de mestrado).
- Chen, C.R.; Xu, C.H.; Blumfield, T.J.; Hughes, J.M. 2003. Soil microbial during the early establishment of hoop pine plantation: seasonal variation and impacts of site preparation. *Forest Ecology and Management*, 186: 213-225.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2006. PRIMER v6: user manual/tutorial. PRIMER-E, Plymouth.
- Correia, K.G., Santos, T.S., Araujo, K.D., Souto, J.S., Fernandes, P.D. 2009. *Atividade microbiana do solo em quatro estágios sucessionais da Caatinga no município de Santa Terezinha, Paraíba, Brasil*. Engenharia Ambiental – Espírito Santo do Pinhal, v.6, n.3, p.534-549.
- Costa P.M.O. 2011. Diversidade de fungos filamentosos em diferentes sistemas de uso do solo. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife-Pe.
- Costa, P.M.O, Souza-Motta, C.M., Malosso, E. 2012. Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. *Agroforest Syst*, 85: 195–203.
- Debosz, K., Ramussen, P.H., Pedersen, A.B. 1999. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input. *Applied Soil Ecology* 13: 209-218.

- De-Polli, H.;** Guerra, J.G.M. Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: método da fumigação-extração. Seropédica, Embrapa-CNPAB, 1997. 10p.(Embrapa-CNPAB. Documentos, 37).
- Dinesh, R.,** Ghoshal Chaudhuri S, Ganeshamurthy, A.N., Dey, C. 2003. Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation in wet tropical forests. *Applied Soil Ecology* 24: 17–26.
- Djajakirana, G.** Joergensen, R.G. Meyer, B. 1996. Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. *Biol Fertil Soils*, 22: 299-304.
- Donagemma, G.K.,** Chaer, G.M., Balieiro, F.C., Prado, R.B., Andrade, A.G., Fernandes, M.F., Coutinho, H.L.C., Correia, E. 2010. Indicadores de qualidade do solo: descrição, uso e integração para fins de estudos em agroecossistemas. In: Ferreira J.M.L et al, ed indicadores de sustentabilidade em sistemas de produção agrícola. Belo Horizonte-MG. p. 143-201.
- Eivazi, F.;** Tabatabai, M.A. Glucosidases and agalactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20:601–606, 1988.
- Epron, D., Nouvellon, Y., Deleporte, P., Ifó, S., Kazotti, G., Thongo M’Bou, A., Mouvondy, W., Saint-André, L., Rouspard, O., Jourdan, C., Hamel, O. 2006. Soil carbon balance in a clonal Eucalyptus plantation in Congo: effects of logging on carbon inputs and soil CO<sub>2</sub> efflux. *Global Change Biology* 12: 1021-1031.
- Evangelista, A. R. S.** 2011. O processo de desmatamento do bioma caatinga: riscos e vulnerabilidades socioambientais no território de identidade do sisal, Bahia. Revista Geográfica de América Central Número Especial EGAL, 2011- Costa Rica. pp. 1-13.
- Fialho, J. S.,** Gomes, V. F. F., Oliveira, Silva Júnior, T. S. J. M. 2006. Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi-CE. *Revista Ciência Agronômica*, v.37, n.3, p.250-257.
- Fracetto, G. G. M.; Azevedo, L.C.B. ; Fracetto, F.J.C.; Andreote, F.D.; Lambais, M.R.; Pfenning, L.H. 2013. Impact of Amazon land use on the community of soil fungi. *Scientia Agrícola* (USP. Impresso), v. 70, p. 59-67.
- Fredericks, D.N.;** Relman, D.A. 1998. Improved Amplification of Microbial DNA from Blood Cultures by Removal of the PCR Inhibitor Sodium Polyanetholesulfonate. *Journal of Clinical Microbiology*, v.36, n.10, p.2810-2816.
- Frouz, J. &** Nováková, A. 2005. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development. *Geoderma* 129: 54 – 64.
- Galindo, I.C.L,** Ribeiro, M.R., Santos, M.F.A.V.S., Lima, J.F.W.F., Ferreira, R.F.A.L. 2008. Relações solo-vegetação em áreas sob processo de desertificação no município de Jataúba, PE. *R. Bras. Ci. Solo*, 32: 1283-1296.
- Gama-Rodrigues, E.F.,** da Gama-Rodrigues, A.C., Paulino, G.M., & Franco, A.A. 2008. Atributos químicos e microbianos de solos sob diferentes coberturas vegetais no norte do estado do Rio de Janeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 32: 1521-1530.
- Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C. 2008. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: Santos, G.A., Silva, L., Canellas, L.P., Camargo, F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica no solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2º edição, Porto Alegre, Metropole, pp. 159-168.
- Garcia, C.,** Hernandez, T., Costa, F. 1994. Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 26, No. 9, pp. 118-1191.
- Garcia, C.,** Hernandez, T., Roldan, A., Martin, A. 2002. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 635-642.
- Gianfreda, L.,** Rao, M. A., Piotrowska, A., Palumbo, G., Colombo, C. 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of the Total Environment*, 341: 265 – 279.
- Gil-Sotres, F.,** Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology & Biochemistry*, 37:877–887.
- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).** 2011. *Apostila de manejo*. Parte I: O Mínimo de ecologia para o manejo florestal.

- Islam, K.R. and Weil, R.R. 2000. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 79: 9–16.
- Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernández, G., Roldán, A. 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. *Applied Soil Ecology* 30: 3-10.
- Jakelaitis, A., Silva, A.A., Santos, J.B., Vivian, R. 2008. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 38: 118-127.
- Kaschuk, G., Alberton, O., Hungria, M. 2010. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 1–13.
- Kramer, S.; Green, D.M. 2000. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 179-188.
- Kruskal, J.B. 1964. "Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method." *Psychometrika* 29: 115–129.
- Lobo, M.C., Sastre and Vicente, M.A. 2006. Enzymes as a measurement of environmental impact on soils. Instituto Madrileño de investigación agraria y alimentaria. Madrid.
- Lopes, M.M., Salviano, A.A.C., Araujo, A.S.F., Nunes, L A. P. L. and Oliveira, M.E. 2010. Changes in soil microbial biomass and activity in different Brazilian pastures. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(4):1253-1259.
- Malosso, E. English, L., Hopkins, D.W. O'Donnell, A.G. 2004. Use of <sup>13</sup>C-labelled plant materials and ergosterol, PLFA and NLFA analyses to investigate organic matter decomposition in Antarctic soil. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 165–175.
- Malosso, E., Waite, I.S., English, L., Hopkins, D.W., O'Donnell, A.G. 2006. Fungal diversity in maritime Antarctic soils determined using a combination of culture isolation, molecular fingerprinting and cloning techniques. *Polar Biol*, 29: 552–561.
- Martins, C.M.; Galindo, I.C.L.; Souza, E.S.; Poroca, H.A. 2010. Atributos químicos e microbianos do solo de áreas em processo de desertificação no semiárido de Pernambuco. *R. Bras. Ci. Solo*, 34: 1883-1890.
- Matias, M. C. B. S.; Salviano, A. A. C.; Leite, L. F. C.; Araújo, A. S. F. 2009. Biomassa microbiana e estoques de C e N do solo em diferentes sistemas de manejo, no Cerrado do Estado do Piauí. *Acta Scientiarum. Agronomy. Maringá*, v. 31, n. 3, p. 517-521.
- McCune, B., Mefford, M.J., 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, *Gleneden Beach, Oregon, USA*.
- Melo, W.J.; Melo, G.M.P.; Araújo, A.S.F.; Melo, V.P. 2010. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: Figueiredo, M.V.B.; Burity, H.A.; Oliveira, J.P.; Rosália, C.E.S.S & Stamford, N.P. eds. *Biotecnologia aplicada à agricultura textos de apoio e protocolos experimentais*. Brasília e Recife, Embrapa Informação Tecnológica e Instituto Agrônômico de Pernambuco, 761p.
- Mendes, I.C.; Júnior, F.B.R. 2004. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. Distrito Federal, *Embrapa Cerrados*.
- Mielke, P.W., Berry, K.J. 2000. *Permutation methods: a distance function approach*. Springer-Verlag, New York.
- Mille-Lindblom, C., Wachenfeldt, E. von., Tranvik, L.J. 2004. Ergosterol as a measure of living fungal biomass: persistence in environmental samples after fungal death. *Journal of Microbiological Methods*. 59: 253 – 262.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente. 2007. *Áreas Prioritárias para a Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização-Portaria MMA Nº 09, de 23 de janeiro de 2007*. Brasília, MMA.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente. 2011. *Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica: Brasil*. Brasília.
- MMA. 2008. *Manejo sustentável dos recursos florestais da Caatinga / Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Departamento de Florestas. Programa Nacional de Florestas. Unidade de Apoio do PNF no Nordeste*. Natal, MMA, 28p. : il.
- MNI. Ministério da Integração Nacional: *Nova Delimitação do Semi-Árido Brasileiro*. 2005.

- Moeskops**, B., Bucahn, D., Sukristiyonubowo, De Neve, S., De Gusseme, B., Widowati, L.R., Setyorini, D., Sleutel, S. 2012. Soil quality indicators for intensive vegetable production systems in Java, Indonesia. *Ecological Indicators*, 18: 218-226.
- Montecchia**, M.S., Correa, O.S., Soria, M.A., Frey, S.D., García, A.F., Garland, J.L. 2011. Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agricultural sites in Northwest Argentina. *Applied Soil Ecology* 47: 176–183.
- Moreira**, F.M.S.; Siqueira, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2002. Lavras, UFLA. 626p.
- Moura, M.S.**, Galvincto, J.D., Brito, L.T.L., Souza, L.S.B., Sá, I.I.S., Silva, T.G.F. 2007. Clima e água de chuva no semi-árido. In: Brito, L.T.L., Moura, M.S., Gama, G.F.B. Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro. *Embrapa. 1ª Edição*, pp. 37-59.
- Moura, M.S., Galvincto, J.D., Brito, L.T.L., Souza, L.S.B., Sá, I.I.S., Silva, T.G.F. 2007. Clima e água de chuva no semi-árido. In: Brito, L.T.L., Moura, M.S., Gama, G.F.B. Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro. *Embrapa. 1ª Edição*, pp. 37-59.
- Muyzer**, G.; Waal, E.C.; Uitterlinden, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction - amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (3): 695-700.
- Nakas**, J.P.; Gould, W.D.; Klein, D.A. 1987. origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. *Soil Biol. Biochem.* 19: 15-18.
- Nunes**, J.S., Araujo, A.S.F., Nunes, L.A.P.L., Lima, L.M., Carneiro, R.F.V., Salviano, A.A.C., Tsai, S.M. 2012. Impact of Land Degradation on Soil Microbial Biomass and Activity in Northeast Brazil. *Pedosphere* 22(1): 88–95.
- Nusslein**, K. and Tiedje, J M. Soil Bacterial Community Shift Correlated with Change from
- Oliveira**, J.R.A.; Mendes, I.C.; Vivaldi, L. 2001. Carbono da biomassa microbiana em solos de Cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. *R. Bras. Ci. Solo*, 25: 863-871.
- Oliveira**, V.C. Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do semi-árido. São Cristovão, Universidade de Sergipe, 2004. (Dissertação de Mestrado).
- Pereira**, S.V.; Martinez, C.R.; Porto, E.R.; Oliveira, B.R.B & Maia, L.C. 2004. Atividade microbiana em solo do Semi-Árido sob cultivo de Atriplex nummularia. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 39: 757-762.
- Pimentel**, M. S., Carvalho, R. S., Martins. L. M. V., Silva, A. V. L. 2011. Seasonal response of edaphic bioindicators using green manure in Brazilian semi-arid conditions. *Revista Ciência Agronômica*, v. 42, n. 4, p. 829-836.
- Ruzicka**, S., Edgerton, D., Norman, M., Hill, T. 2000. The utility of ergosterol as a bioindicator of fungi in temperate soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 989±1005.
- Schimitz**, J.A.K. Indicadores biológicos da qualidade do solo. 2003. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. (Tese de doutorado).
- Schnürer, J. & Roswall**, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43: 1256-1261.
- Silva**, C.M.M.S., Fay, E.F., Vieira, R.F. 2005. Efeito dos fungicidas Metalaxil e Fenarimol na microbiota do solo. Pesticidas: recotoxical. e maio ambiente, Curitiba. 15:93-104.
- Silva**, D.K.A da., Freitas, N.O., Souza, R.G., Silva, F.S.B., Araújo, A.S.F., Maia, L.C. 2012. Soil microbial biomass and activity under natural and regenerated forests and conventional sugarcane plantations in Brazil. *Geoderma* 189-190: 257–261.
- Silveira**, R.B., Melloni, R., Melloni, E.G.P. 2005. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, em Itajubá/MG. *Cerne*, Lavras. V. 12, n. 1, 48:55.
- Soares**, V.O. & Almeida, M. O. 2011. O bioma Caatinga sob a percepção da paisagem e a dinâmica da agricultura. *Revista Geográfica de América Central*. Número Especial EGAL, Costa Rica. pp. 115.
- Swisher, R.**; Carrol, G.C. Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. *Microbial Ecology*. 6: 217-226, 1980.
- Tabatabai**, M.A.; Bremner, J.M. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-307, 1969.

- Tomé Jr, J.B. 1997. Manual para interpretação de análise do solo. Guaíba: Agropecuária. 247p.
- Tótolá, M.R.; Chaer, G.M. 2002. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ, V.H et al. Tópicos em ciências do solo. Viçosa, *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 276p.
- Vainio, E.J.; Hantula, J. 2000. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. *Mycol. Res.* 104 (8): 927-936.
- Vance E, Brookes P, Jenkinson D. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 19:703-707.
- Varchot, L. V., Borelli, T. 2005. Application of  $\rho$ -nitrophenol ( $\rho$ NP) enzyme assays in degraded tropical soils. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 625–633.
- Velloso, A.L., Sampaio, E.V.S.B., Pareyn, F.G.C. 2002. Ecorregiões: propostas para o bioma Caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste; Instituto de Conservação Ambiental The Nature Conservancy do Brasil.
- Wick, B., Tiessen, H., Menezes, R.S.C. 2000. Land quality changes following the conversion of the natural vegetation into silvo-pastoral systems in semi-arid NE Brazil. *Plant and Soil* 222: 59–70.
- Xavier, F.A. da S., Maia, S.M.F., Oliveira, T.S., & Mendonça, E. de S. 2006. Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na Chapada da Ibiapaba – CE. *R. Bras. Ci. Solo*, 30: 247-258.
- Xavier, G.R., Zilli, J.E., Rumjanek, N.G. 2004. Estudo da comunidade microbiana do solo através de clonagem, eletroforese em géis desnaturantes (DGGE/TGGE) e conformação de fita simples do DNA (SSCP). Soropédica: Embrapa Agrobiologia. 28p. (*Embrapa Agrobiologia. Documentos*, 172).